IMPERIAL AGRICULTURAL
RESEARCH INSTITUTE, NEW DELHI.

E_1 die auf der Meßbrücke abgelesenen Millivolt, E_h die auf eine Normalwasserstoffelektrode, deren Potential willkürlich gleich Null gesetzt ist, bezogenen Millivolt.

Die vergoldete Platinelektrode, die in die zu untersuchende Flüssigkeit taucht, nimmt ein um so positiveres Potential an, je größer die oxydierende Kraft ist. Für die Höhe des Potentials ist das Verhältnis der Konzentration der oxydierten zur reduzierten Stufe der betreffenden Substanz (Ox. : Red.) und eine für jede Substanz charakteristische Konstante E_0 wichtig, wobei E_0 den Potentialwert darstellt, der sich einstellt bei $p_H = 0$ und Ox. : Red. = 1. E'_h bedeutet den Potentialunterschied einer Redoxelektrode gegen eine Wasserstoffelektrode in einer Lösung ohne das Redoxsystem von gleichem p_H.

Zur Beurteilung fügen wir einige wichtige r_H-Werte an. Eine Wasserstoffelektrode bei $p_H = 7$ gegen die Normal-Wasserstoffelektrode hat den Wert $r_H = 0{,}0$; die Sauerstoffelektrode ergibt unter gleichen Bedingungen den Wert $r_H = 41{,}0$.

Flavin	r_H etwa bei 6—7
Laktat-Pyruvat-Dehydrase	r_H etwa bei 8,0
Succinat-Fumarat-Dehydrase	r_H etwa bei 14,0
Vitamin C	r_H etwa bei 17
Cytochrom	r_H etwa bei 18,1

Daneben benutzten wir noch das von Clark und Thunberg entwickelte System der Redoxindikatoren. Dabei wurden Farbstoffe verwendet, die im oxydierten und reduzierten Zustand verschiedene Färbung aufweisen. Sie müssen möglichst ungiftig sein und bei verschiedenem Oxydationspotential ihren Farbumschlag haben. Wir verwendeten in erster Linie die auf S. 6 aufgeführten Farbstoffe, deren r_H am gleichen Ort verzeichnet ist. Diese Versuche wurden in Thunbergröhren, evakuierbaren und dicht verschließbaren Reagenzgläsern ausgeführt. Die Farbstoffe wurden in geringstmöglicher Konzentration gewählt, da größere Mengen durch ihr Eigenpotential das des zu untersuchenden Systems zu überdecken vermögen. Man spricht dann, entsprechend einer Pufferung der Wasserstoffionenkonzentration, von einer Beschwerung.

Die Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration erfolgt fast ausschließlich mit Hilfe einer Chinhydron-Elektrode gegen eine gesättigte Kalomelektrode.

Zur Untersuchung wurden die Knöllchen und aus diesen isolierte Bakterien der Pferdebohne (Vicia Faba) benutzt, die im Freiland des Botanischen Gartens der Universität Halle (Saale) und Königsberg (Pr.) gezogen wurden.

C. Untersuchungen an Knöllchen.

Wenn wir nun nach den Bedingungen suchen, die das Bakterienkulturmedium vom Knöllchen unterscheiden, so ist es unsere erste Aufgabe, einige physiologische Bedingungen im Knöllchen selbst zu ermitteln. Im Rahmen dieser Arbeit interessieren uns besonders die herrschenden Oxydoreduktionsverhältnisse und damit natürlich auch die Azidität. In dieser Hinsicht ist das Knöllchen nie Gegenstand irgendwelcher Untersuchungen gewesen.

1. Anatomie des Knöllchens.

Die Knöllchen entstehen bei den verschiedenen Leguminosen-Arten offenbar in beträchtlich verschiedener Weise: entweder aus dem Perizykel; sie verhalten sich dann in jugendlichem Zustand wie eine Seitenwurzel und werden von der Endodermis der Wurzel umhüllt. Oder sie entwickeln sich aus dem Rindengewebe, wobei bei Phaseolus die äußersten Rindenschichten, im übrigen meist die der Endodermis benachbarten inneren Schichten, die ersten Teilungen zeigen. Hierzu gehört Vicia Faba. Die Knöllchenentwicklung regt dann offenbar gleichzeitig die benachbarten Perizykelgewebe zur Teilung an. Diese wölben die Endodermis nach außen; jedoch bleibt sie immer zwischen Knöllchen und Zentralzylinder. Das reife Knöllchen zeigt jedoch ebenfalls eine Scheide um die zentralen Partien, die durchaus wie eine Endodermis aussieht und auch den Anschluß an die Endodermis der Wurzel

findet. Wie nun auch die Knöllchen sich entwickeln, im fertigen Zustande ist ein zentrales, bakterienführendes Gewebe vorhanden. Dieses ist von einer Art Endodermis von verschiedener Entstehung umgeben. Außen liegen Rindenschichten und endlich eine meist zerstörte Epidermis (vgl. hierzu Fred, Baldwin, McCoy, Root Nodule Bacteria and Leguminous Plants, p. 150 ff.). Besonders wichtig ist, daß das Bakteroidengewebe junger Knöllchen ausgesprochen fleischrote Farbe, wenn auch von verschiedener Intensität, zeigt. Diese Tatsache ist bisher ungenügend beachtet worden.

2. Azidität des Knöllchengewebes.

Wir haben nun versucht, die im Knöllchen herrschende Wasserstoffionenkonzentration zu ermitteln.

Versuch 1: Zu diesem Zwecke wurden Schnitte intakter junger Knöllchen in die von Small vorgeschlagenen Indikatoren gelegt und spätestens nach 30 Min. beobachtet. Die Farbstoffe erlitten dann innerhalb des zu untersuchenden Schnittes je nach ihrem Umschlagspunkt charakteristische Verfärbungen oder nicht. Diese Ergebnisse waren in zahlreichen Versuchen durch die ganze Vegetationsperiode hindurch einheitlich. Sie sind deshalb zusammengefaßt:

Farbstoff	Umschlagsgebiet	Farbe in der Wurzel und in der Knöllchenrinde	Farbe des Bakteroidengewebes
Bromphenolblau	$p_H > 4$: tiefblau $p_H < 3$: gelb	gelb	tiefblau
Bromkresolgrün	$p_H > 4{,}4$: tiefblau $p_H < 4{,}0$: gelb	gelb	grünlichgelb
Benzazo-α-naphthylamin	$p_H > 4{,}8$: gelb $p_H < 4{,}4$: tiefrot	rot	tiefgelb
Methylrot	$p_H > 5{,}6$: gelb $p_H < 5{,}2$: tiefrot	rot	wegen der roten Eigenfarbe des Knöllchens nicht sicher beobachtet
Di-Äthylrot	$p_H > 6{,}0$: gelb $p_H < 5{,}6$: tiefrot	rot	
Bromkresolpurpur . . .	$p_H > 6{,}2$: purpur $p_H < 5{,}8$: gelb	gelb	gelb

Wie aus der Tabelle ersichtlich, ist der Querschnitt der gesamten Wurzel im Bromphenolblau in allen Teilen deutlich gelb. Das Bakteroidengewebe ist tiefblau. Das Wurzelgewebe hat demnach ein p_H um 3,5. So erstaunlich dies klingen mag, so ist es doch mit der Tatsache in Einklang zu bringen, daß die Leguminosen fähig sind, Rohphosphate aufzuschließen.

Small gibt an, daß für solche Werte wohl Oxalat- und Malatpuffer verantwortlich seien. Im Bromkresolgrün ist der Wurzelquerschnitt wieder in allen Teilen gelb. Das Bakteroidengewebe nimmt einen grünlichgelben Ton an. Benzazo-α-Naphthylamin färbt besonders die Leitungsgewebe der Wurzel stark rot. Die Endodermis hebt sich tiefgelb ab. Sie umgibt das Bakteroidengewebe, das sich in seiner matten Gelbfärbung von der Endodermis deutlich abhebt (siehe Abb. 1). Methylrot färbt das Wurzelgewebe rot. Die Endodermis ist wieder deutlich gelb. Für das Bakteroidengewebe läßt es sich aber nicht sicher sagen, ob schon ein gelber Ton vorhanden ist oder ob hier ein eindeutiges Rot vorliegt, weil die Eigenfarbe des Knöllchens hier wie beim Di-Äthylrot sehr hinderlich ist. Im Bromkresolpurpur aber ist das Bakteroidengewebe deutlich gelb. Zwischen dem Di-Äthylrot und dem Bromkresolpurpur also wird der Umschlagspunkt liegen.

Wir können also sagen, daß der p_H-Wert des Bakteroidengewebes zwischen 5,8 und 6 liegen wird.

Wir haben nun zur Kontrolle dieser Ergebnisse auch Bakteroidengewebe in abgekochtem destillierten Wasser zerrieben und im Brei die Azidität elektrometrisch ermittelt. Dabei wurden Werte um $p_H = 6{,}1$ erhalten.

Der Säuregrad im normalen Wurzelgewebe wie auch in der Knöllchenrinde ist also von dem des Bakteroidengewebes ganz bedeutend unterschieden. Wir haben damit eine erste Feststellung über das spezifische Milieu der Knöllchenbakterien machen können.

3. Die Redoxpotentiale in Anaerobiose.

Seitdem Ehrlich 1883 erkannt hatte, daß die lebende Zelle imstande ist, verküpbare Farbstoffe zu reduzieren, sind hauptsächlich von Zoologen in neuerer Zeit viele Untersuchungen angestellt worden, die Oxydo-Reduktionskraft der Zellen zu messen, wovon wir hier nur einige erwähnen.

Needham und Needham injizierten in einer Atmosphäre von reinem Stickstoff Farbstoffe in oxydierter und reduzierter Phase in Amöben und beobachten, ob und in welcher Zeit der Farbstoff verändert wurde. Dabei kamen sie zu dem Ergebnis, daß die Amöbe in der Anaerobiose ein $r_H = 17$—19 zeigt. Diese Versuche wurden dann von Chambers, Cohen, Pollack, Reznikoff kontrolliert, sowohl mit Amöben, als auch mit Echinodermeneiern, und sie konnten zeigen, daß der r_H unter anaeroben Bedingungen nicht größer als 7,5, eher kleiner ist. Für Aerobiose konnte gezeigt werden, daß der r_H-Wert zwischen 13 und 18 liegt. Im Äthylkaprilblau fanden die genannten Autoren einen Indikator, der partiell reduziert wurde, der also zeigte, wo die Geschwindigkeit der Reduktion des Farbstoffs durch die Zelle gleich der der Reoxydation durch den Sauerstoff ist. Der r_H des Äthylkaprilblau liegt bei 12, und somit geben sie an, daß das aerobe Potential bei $r_H = 12{,}0$ liege.

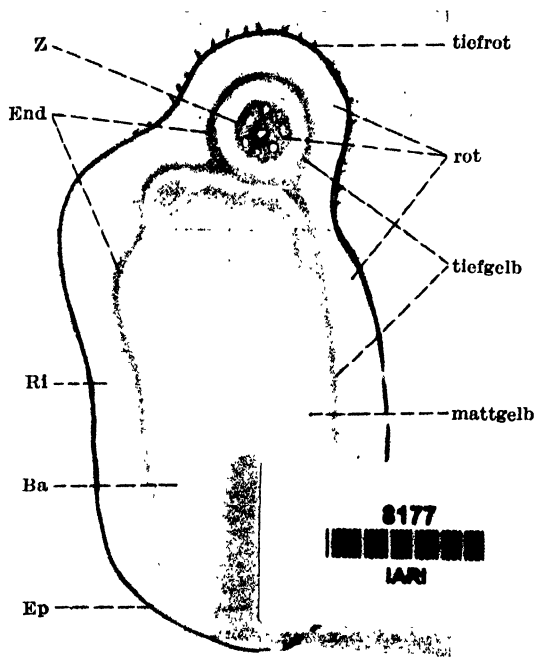


Abb. 1. Querschnitt durch Wurzel und Knöllchen im Benzazo-α-Naphthylamin. Ba = Bakteroidengewebe; End = Endodermis; Ri = Rinde; Ep = Epidermis; Z = Zentralzylinder der Wurzel.

Mit pflanzlichen Objekten arbeitete M. Brooks. Sie konnte für Valonia macrophysa zeigen, daß der r_H-Wert des Zellsaftes zwischen 16 und 18 liegt. Rapkin und Wurmser erhielten für Spirogyrazellen Werte, die bei 15 liegen. Krassinsky konnte diese Werte auch für die Zellen der höheren Pflanzen bestätigen.

Brooks hat die Methode der Färbung lebender Zellen angewendet. Rapkin und Wurmser haben Farbstoffe injiziert. Krassinsky hat den Preßsaft seiner Objekte in kleinen Gläsern untersucht. Er überschichtete das Untersuchungsmaterial mit Toluol, um es vor weiterem Luftzutritt zu schützen, und verschließt noch die Gläser mit einem Stopfen. Er mißt elektrometrisch. Wartenberg und Mitarbeiter untersuchten die Redoxkraft der Kartoffeln und gingen dabei ähnlich vor wie Krassinsky. Auch sie untersuchten geriebene Kartoffeln und meinten das zu untersuchende

System dadurch vor weiterem Luftzutritt zu schützen, daß sie die Tätigkeit der Tyrosinase fördern und daß so sämtlicher Luftsauerstoff zur Melaninbildung verbraucht wird.

Zur Ermittlung der Reduktionskraft haben wir nicht das gesamte Knöllchen, sondern allein das rote Bakteroidengewebe benutzt, das leicht mit einem Skalpell herausnehmbar ist und fein geschnitten zur Verwendung gelangt.

Zunächst wurde mit Indikatoren von Clark gearbeitet. In Thunbergröhren wurden 2 ccm einer m/15 Phosphatpufferlösung sec. : prim. = 3 : 2 gegeben, was einem p_H von ungefähr 7 entspricht. Zu der Pufferlösung wurde der jeweils zu untersuchende Farbstoff in einer Konzentration von 0,0016% zugegeben. In Vorversuchen hatte sich diese Verdünnung als günstigste herausgestellt. Von dieser geringen Menge Farbstoff darf man wohl annehmen, daß sie lediglich als Indikator wirkt und das zu untersuchende System nicht beschwert. Gegenüber noch stärkeren Verdünnungen kann der Vorteil geltend gemacht werden, daß der Übergang in die Leukophase, die reduzierte, farblose Phase und die Reoxydation eindeutig zu erkennen ist. Nachdem auch die zerschnittenen Knöllchenkerne zugegeben waren, wurde an der Wasserstrahlpumpe scharf evakuiert. Die evakuierte Röhre wurde gleichzeitig mit einer Vergleichsröhre ohne Knöllchen in einen Thermostaten gestellt, dessen Innentemperatur 32° betrug, und die Zeit der Entfärbung wurde beobachtet. Nach erreichter völliger Entfärbung wurde wieder Luft zugelassen und festgestellt, ob eine Reoxydation zu beobachten war.

Das Ergebnis zeigt Versuch 2:

Farbstoff	r_H des Farbstoffs	Zeit der Entfärbung nach der Absaugung	Reversibel
O-Kresol-indophenol	20,5	15′	+
Toluylenblauchlorid	17,9	120′[1])	±
Gallocyanin	15,1	10′	+
Cresylblau	15,1	10′	+
Toluidinblau	14,4	180′[1])	langsam
Azur I	14,4	sofort	+
Indigotetrasulfonat	12,5	50′	+
Indigodisulfonat	9,9	180′	+
Nilblau	9,2	±	
Phenosafranin	5,7		
Janusgrün	5,2		

[1]) Diese Farbstoffe wirken leicht giftig, worauf wohl auch die langsame Reduktion zurückzuführen ist.

In dieser Tabelle sind die Farbstoffe nach fallendem E_0' bei $p_H = 7$, ausgedrückt in r_H-Werten, angeführt. Bis zum Indigodisulfanat $r_H = 9{,}9$ ist eine deutliche Entfärbung und Reoxydation mit Sicherheit anzugeben. Nilblau als nächst tieferstehender Farbstoff $r_H = 9{,}2$ gab keine eindeutigen Resultate. Phenosafranin wurde erst nach so langer Zeit (12 Std.) reduziert, daß man nicht mehr sagen konnte, ob hier nur die Reduktionskraft des Knöllchens wirksam war, oder ob nicht inzwischen eine Fremdinfektion eingetreten war. Janusgrün $r_H = 5{,}2$ wird nach Wurmser und Michaelis in 2 Stufen reduziert. Davon ist aber nur die zweite, von rosa nach weiß, reversibel und daher für unsere Messungen allein von Interesse. Während die erste Stufe, von blau nach rosa, immer schnell erreicht wurde, konnte die weitere Reduktion zu weiß nie beobachtet werden.

Da E_0 den Wert für 50% Reduktion darstellt, wir aber bis zur völligen Entfärbung beobachteten, können wir auf Grund dieser Versuche annehmen, daß der r_H des Knöllchens etwa bei 9,2—9,9 liegen wird.

Diese Untersuchungen wurden durch Anwendung der elektrometrischen Potentialbestimmungen erweitert.

Die Messungen wurden im Stickstoffstrom ausgeführt; um möglichst jede Spur Sauerstoff auszuschalten, wird der Stickstoff, nachdem er 2 Waschflaschen mit Pyrogallol-Kalilauge passiert hatte, über glühende Kupferspäne geleitet.

Versuch 3:

Zu einem Phosphatpuffergemisch wurden 0,0016% O-Kresol-indophenol zugesetzt. Das Bakteroidengewebe einiger Knöllchen wird herauspräpariert und zugegeben. $p_H = 7{,}04$.

17,50 Uhr wurde begonnen, Stickstoff einzuleiten.

20,30 Uhr ist der endgültig eingestellte Wert $E_1 = -0{,}397$ V.

p_H ist am Ende des Versuches unverändert und es berechnet sich: $r_H = 9{,}32$.

Die Wiederholung dieses Versuches ergab den Wert: $r_H = 10{,}7$.

Der Potentialabfall ist aus Abb. 2 zu ersehen. Wurde Indigodisulfonat bei sonst gleichen Bedingungen als Indikator zugegeben, so resultierte ein $r_H = 11{,}0$. Indigotetrasulfonat ließ ein $r_H = 10{,}6$ erreichen (vgl. Abb. 3).

Das Ergebnis der kolorimetrischen Methode finden wir also annähernd bestätigt; die Werte liegen vergleichsweise ein wenig zu hoch.

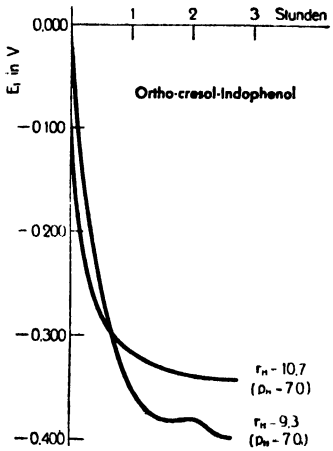


Abb. 2.

Es wäre denkbar, daß die Ursache hierfür in den Aziditätsverhältnissen liegt; denn p_H-Werte um 7,0 haben wir im Knöllchen nie beobachtet. Die Azidität wird aber nicht allein die Aktivität des Knöllchengewebes beeinflussen, sondern auch die Redoxpotentiale selbst, die mit steigendem p_H-Wert abfallen. Bei dem natürlichen p_H-Wert 6 könnte demnach ein noch höheres r_H erwartet werden. Das ist aber nicht der Fall.

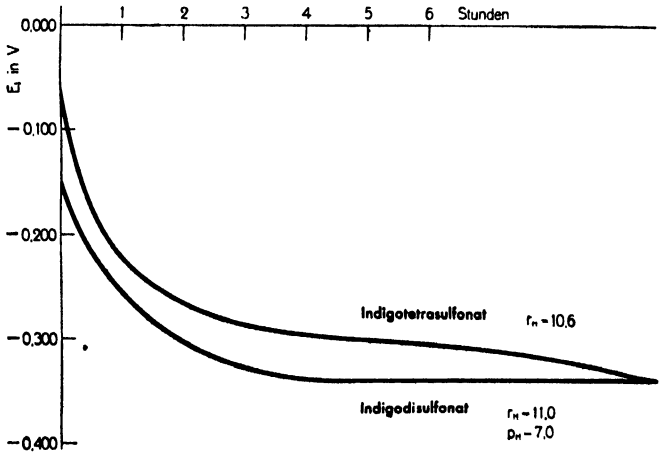


Abb. 3.

Versuch 4 und 5:

Phosphatpuffer $p_H = 6$. Indigotetrasulfonat 0,0016%, Knöllchenkerne. Nach etwa 8 Std. stellt sich ein Potential von $E_1 = -0{,}450$ V. ein, wobei es konstant bleibt. Am Ende des Versuches ist $p_H = 5{,}6$ bei 24°, was einem $r_H = 4{,}2$ entspricht. In einem zweiten Versuch unter gleichen Bedingungen wird nach 7 Std. ein $E_1 = -0{,}240$ V. erreicht, das sich 9 Std.

konstant hält. Bei $p_H = 5{,}8$ und 23° entspricht dies einem $r_H = 6{,}6$ (vgl. Abb. 4).

Wir sind geneigt, anzunehmen, daß das für die Ausbildung des Potentials verantwortliche System bei höherem p_H nicht völlig aktiviert ist, so daß die maximale Reduktion nicht erreicht wird. Darauf deuten auch die von uns beobachteten Atmungsverhältnisse hin. Bei $p_H = 7$ war die CO_2-Produktion von Knöllchenschnitten wesentlich geringer als bei $p_H = 6$. Die Ergebnisse könnten natürlich eine Trübung erfahren, wenn das System eine Beschwerung durch den Farbstoff erführe. Dagegen sprechen aber eine Reihe von Tatsachen. Farbstoffe mit beträchtlich verschiedenem Redoxpotential beeinflussen das r_H des Systems keineswegs in der Richtung ihres Eigenpotentials. Die im System beobachteten Schwankungen der r_H-Werte sind unbeträchtlich. Das System zeigt auch ohne Farbstoff r_H-Werte der gleichen Größenordnung. Es wäre aber nach unserem Eindruck durchaus denkbar, daß die Farbstoffe eine beschleunigende Wirkung auf die Potentialeinstellung ausüben (vgl. Lehmann). Jedoch sind die individuellen Unterschiede der Knöllchen je nach Alter usw. zu groß, um durch Vergleich verschiedener Knöllchen zu exakten Werten gelangen zu können. Wir wollen deshalb keine weitergehenden Schlüsse ziehen und nur feststellen, daß bei $p_H = 6$ r_H-Werte bis 4 erreicht werden.

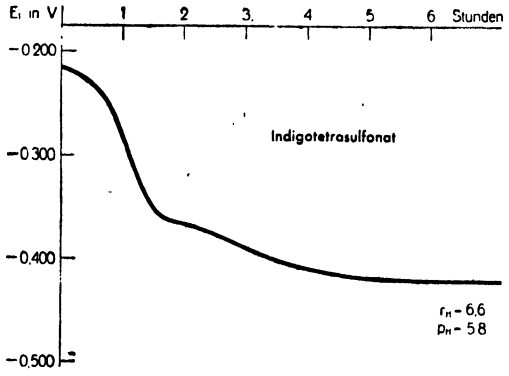


Abb. 4.

Wir haben in allen bisherigen Versuchen dem untersuchten System nie einen Wasserstoffdonator zugegeben. Es mußten also stets im Knöllchen vorhandene Reserven oxydiert werden. Wir haben nun im nächsten Versuch Glukose vom Knöllchen veratmen lassen und verfolgen die Dehydrierung potentiometrisch. Dabei dürfen wir nicht außer acht lassen, daß wir in der Glukose einen Körper vor uns haben, der in alkalischer Lösung ein stark negatives Potential erzeugen kann, da selbst Nilblau noch reduziert wird. Wurmser gibt einen r_H-Wert von etwa 7 an.

Nun ist für die Beurteilung der Versuche noch wichtig, daß das Knöllchengewebe in Gegenwart von Glukose oder Rohrzucker stärker ansäuert als ohne solchen Zusatz. Wir können bei unseren Versuchen jedoch lediglich das Anfangs-p_H und das Schluß-p_H bestimmen. Denn während des ganzen Versuches muß die Kultur vom Stickstoff durchströmt werden. Jedes vorübergehende Öffnen ist gefährlich, da schon kleinste Mengen Sauerstoff das Potential stark beeinflussen. Wir haben deshalb grundsätzlich auf solche Probeentnahmen während des Versuches verzichtet. Da mit veränderlichem p_H auch der gemessene E_1-Wert sich ändert, ist an sich eine Nichtkonstanz des direkt gemessenen Potentials kein Beweis dafür, daß auch der r_H noch nicht konstant ist. Wir müßten durch zahlreiche Versuche ermitteln, in welcher Zeit etwa das System in bezug auf p_H und r_H eine annähernde Konstanz erreicht hatte. Alle „intermediären" E_1-Werte sind für das Ergebnis ohne Bedeutung. Ihre kontinuierliche Veränderung ist aber ein Beweis, daß Störungen (Sauerstoffeintritt, Infektion u. a.) nicht statthaben.

Versuch 6:

Phosphatgemisch $p_H = 5{,}8$; 0,0016% Indigotetrasulfonat; junges Knöllchengewebe. Bei Zugabe von 2% Glukose steigt die Azidität während der Potentialbestimmung im Stickstoffstrom von $p_H = 5{,}8$ auf $p_H = 3{,}9$—4.

E_1 sinkt dabei schnell auf $E_1 = -0{,}225$ V., steigt aber dann entsprechend dem sinkenden p_H langsam an, woraus zu entnehmen ist, daß ein konstanter r_H-Wert schnell erreicht ist. Das ist von Bedeutung für den Ausschluß jeder Einwirkung von Fremdinfektion. Die so erreichten r_H-Werte schwanken zwischen 5,3 und 6,7. Sie sind nie konstant, wie oben schon bemerkt, so daß wir annehmen, daß kein homogenes System allein für das Potential verantwortlich ist. Die Versuche mit 2% Rohrzucker ergaben dieselben Werte. Wurde mit Rohrzucker ohne Farbstoff gearbeitet, kamen wir bei von 5,8 auf 3,65 sinkendem p_H zu einem r_H von 6,4. Bei Fruchtzucker kamen wir in der gleichen Zeit auf p_H 4,6 und $r_H = 6{,}8$. Man kann daraus schließen, daß, wie in den obigen Versuchen, eine Beschwerung des Systems durch Farbstoff wiederum nicht vorgelegen haben kann. Andererseits beobachteten wir, daß beim Bakteroidengewebe das Redoxpotential unter das Eigenpotential der Glukose hinabsinkt. Daraus ist zu schließen, daß die Kohlenhydrate nicht bestimmend sind für die beobachteten Werte, sondern ein System, das wahrscheinlich aus den Kohlenhydraten durch das lebende Gewebe bzw. die Bakterien erst erzeugt worden ist.

Leider stellt sich in gleicher Weise mit Mannit ein konstantes Potential nicht schnell genug ein, so daß Infektionen hierbei nicht ausgeschlossen werden konnten. Wir haben, wie unten beschrieben, jedoch mit sterilen Bakterienkulturen auch bei Mannit entsprechende Ergebnisse erzielt. Mannit läßt das Medium wesentlich langsamer ansäuern. Wir schließen daraus, daß Mannit in Anaerobiose weniger gut verwertet wird als Zucker. Wenn wir dennoch mit ihm noch weitere Experimente angestellt haben, so deswegen, weil es, im Gegensatz zu Zuckern, kein Eigenpotential ausbildet, worin für uns ein sehr großer Vorteil lag.

Das wichtigste Ergebnis ist, daß in allen Versuchen ein Redoxpotential ermittelt wurde, das unter dem für typisch aerobe Gewebe bekannten ($r_H = 12$—18) liegt. Das Bakteroidgewebe besitzt deshalb die Fähigkeit, anaerobe Potentiale auszubilden. Es ist dabei zunächst gleichgültig, ob während des Versuches selbst die Wurzelzellen bzw. das eigentliche Leguminosengewebe überhaupt abstirbt, da es vielleicht diese strenge Anaerobiose nicht lange verträgt.

Bei allen Evakuierungsversuchen (Thunbergröhren) wurden ohnehin die Zellen mindestens teilweise durch den plötzlichen Unterdruck zerstört. Dabei traten die Bakterien aus und trübten die Flüssigkeit. Bei den elektrometrischen Bestimmungen wurde dies nicht beobachtet. Die Werte fielen jedoch ähnlich aus.

Trotzdem ist auf Grund aller Versuche nicht mit Sicherheit auszusagen, wer nun das tiefe Potential bestimmt hat, das Knöllchengewebe oder die Bakterien. Wir möchten jedoch annehmen, daß es in erster Linie die Bakterien sind, sowohl wegen der Tiefe des Potentials selbst, als auch wegen der Schnelligkeit der Einstellung, die einen intensiven Stoffumsatz voraussetzt.

In allen Versuchen ist nur die m ö g l i c h e Reduktionskraft bestimmt worden. Diese sagt nichts darüber aus, welche Potentiale im gesunden Knöllchen unter natürlichen Bedingungen herrschen. Denn die durch Evakuierung oder Stickstoffdurchgasung erzwungene Anaerobiose ist sicherlich ein ganz unnatürlicher Zustand. Es bleibt also unentschieden, ob natürlicherweise die möglichen Reduktionskräfte wirklich voll ausgenutzt werden, es bleibt unentschieden, ob im gesunden Knöllchen ähnliche Potentiale herrschen.

4. Die Redoxpotentiale des Knöllchens im natürlichen Zustande.

Um das unter natürlichen Bedingungen herrschende Potential des Knöllchens zu ermitteln, konnten wir in verschiedener Weise vorgehen. Wir konnten Redox-Indikatoren injizieren oder sie durch Eintauchen der Wurzeln in deren Lösungen eindringen lassen. Beide Methoden erwiesen sich als wenig praktisch, da die Injektion überhaupt nicht recht bei diesen prallen Geweben gelang und weil die Diffusion höhere Konzentrationen voraussetzt, von denen man nicht weiß, ob sie schädigen oder das natürliche Potential beschweren.

Jedoch spielte uns eine bemerkenswerte chemische Qualität der Vicia-Wurzeln ein Mittel in die Hand, das Knöllchenpotential in einem uns genügenden Ausmaße zu bestimmen.

In dem jungen, gesunden Knöllchen beobachteten wir regelmäßig das Vorhandensein eines roten Farbstoffes. Wurden diese Knöllchen im Stickstoffstrom zum reduktiven Stoffwechsel veranlaßt, schwand der rote Farbstoff; das Gewebe wurde weiß. Der Prozeß war durch Sauerstoff reversibel. So wieder gerötete Knöllchen konnten abermals ausgeblichen oder, wie wir sagen wollen, reduziert werden. Zerschnittene Knöllchen mit Palladium-Wasserstoff behandelt, wurden ebenfalls reversibel gebleicht. Zweifellos handelt es sich hier um ein Chromogen, dessen Leukophase seine reduzierte Stufe ist. Es bildet ein reversibles Oxydationssystem.

Preßsäfte der zerriebenen Knöllchen, die durch Filtration durch ein Seitz-Filter entkeimt waren, wurden an der Luft schnell schwarz, in Stickstoff jedoch nicht. Auch gekochte Preßsäfte wurden an der Luft schwarz. So verfärbte Knöllchen oder Preßsäfte waren nicht reversibel zu reduzieren, die rote Farbe trat nicht wieder auf.

Alte Knöllchen verfärben sich mit der Degeneration des Bakteroidgewebes allmählich von rot in grün. Die grüne Farbe ist nicht in rot zu reduzieren. Daraus schließen wir, daß auch zwischen dem roten und dem grünen und schwarzen Farbstoff je ein Oxydationssystem vorliegt, das aber nicht reversibel ist.

Nun zeigte bereits Pfeffer, daß in bestimmten Geweben von Vicia Faba ein Stoff vorhanden ist, der mit Wasserstoffsuperoxyd behandelt, oxydiert wird, was sich in einer Bräunung des Zellsaftes äußert. Palladin erkannte in diesem „Atmungschromogen" ein Brenzkatechinderivat, und Guggenheim konnte aus dem Perikarp von Vicia Faba eine 3—4 Dioxyphenyl-α-Aminoproprionsäure isolieren. A. F. Wilhelm zeigte die Wahrscheinlichkeit einer Beteiligung des Chromogens am Eiweißstoffwechsel als Eiweißspaltprodukt auf. Er wies auf seine mögliche Verwendung bei der Atmung hin und betrachtete das Chromogen und seine reduzierte Stufe als Redoxsystem.

Friedheim zeigte für den roten Körper, das erste sichtbare Produkt der Tyrosinasewirkung, daß er mit Cystein oder mit aktiviertem Wasserstoff zu einem Leukokörper reversibel reduzierbar ist. Die von ihm gemessenen Potentiale gehorchen der Nernstschen Gleichung. Das Normalpotential E_0 des roten Körpers ist von derselben Größenordnung wie bei Pyocyanin und Hallochrom. Er mißt eine dreifache Atmung roter Blutkörperchen bei Zugabe des roten Körpers in Konzentration von $\frac{m}{1180}$. Der rote Körper hat also die Eigenschaften eines akzessorischen Fermentes.

Nach alledem kann wohl darüber kein Zweifel bestehen, daß der in den jungen Knöllchen vorliegende Farbstoff der rote Körper Rapers und Friedheims ist, eine intermediäre Substanz im Zuge der Verwandlung von Tyrosin oder Dioxyphenylalanin in Melanin. Das Auffällige dieses Vorkommens ist, daß er im normalen Wurzelgewebe dieser Körper nie beobachtet wird, er tritt vorübergehend im absterbenden Gewebe auf und wird schnell

zu Melanin weiteroxydiert. Die gesunde Wurzel ist weiß, sie enthält wahrscheinlich entweder Dioxyphenylalanin, wie Wilhelm annimmt, oder die reduzierte Phase des roten Körpers, was die Wilhelmschen Ergebnisse nicht ausschließen.

Im normalen Wurzelgewebe muß also ein anderer Oxydationszustand herrschen als im Bakteriengewebe! Aber das Bakteriengewebe ist damit nicht etwa absterbendes Gewebe. In solchem tritt zwar der rote Körper auch auf, aber nur vorübergehend. Im Bakteriengewebe ist er beständig. Wir besitzen in diesem roten Körper also ein ausgezeichnetes Mittel zur Abschätzung des im Knöllchen herrschenden Oxydationszustandes unter normalen Bedingungen, das den Nachteil der Giftigkeit und des Unbiologischen nicht besitzt.

Nach den Berechnungen von Friedheim besitzt das System „roter Körper-Leukobase" ein Redoxpotential $r_H = 15{,}2$. Daraus geht zunächst hervor, daß die Bakteroidgewebe ein $r_H > 15$ besitzen, und daß sie darin sich deutlich vom Rindengewebe der Knöllchen wie von jedem intakten Wurzelgewebe unterscheiden, in denen der rote Körper in reduziertem Zustand vorliegt, die also ein $r_H < 15$ besitzen. Das erscheint als eine sehr auffällige Tatsache, wenn wir daran erinnern, daß gerade die Bakteroidgewebe eine viel größere Reduktionskraft entfalten können, als normale aerobe Gewebe.

D. Untersuchung an Bakterienkulturen.

Die allgemeinen Bedingungen der Bakterienkultur und ihr Verhalten.

Wie einleitend schon erwähnt, war es Beijerinck, der als erster das Bakterium aus den Knöllchen kultivieren konnte. Er benutzte zur Kultur Abkochungen von Erbsenstengeln und Blättern, denen er Asparagin und Apfelsäure zusetzte. Über die weiteren Erfahrungen mit der Isolierung und Kultur der Knöllchenbakterien berichten ausführlich Müller und Stapp, wie auch Fred, Baldwin und Mc Coy.

Wir isolierten das Bakterium in der Weise, daß wir zunächst Wurzeln von Vicia Faba mit jungen Knöllchen unter einem starken Wasserstrahl abwuschen. Die Knöllchen wurden dann mit ihren Wurzeln in eine 1proz. wässerige Sublimatlösung getaucht. Nach 1—2 Min. kamen sie in 70proz. Alklohol für etwa 5 Min., dann wurden sie abgeflammt und in ein mit sterilisierter Nährlösung befeuchtetes Farbnäpfchen gedrückt, das sich in einer sterilisierten Petrischale befand. Von diesem Konzentrat wurde je eine Öse in ein mit Nährlösung gefülltes sterilisiertes Reagenzglas geimpft. Nachdem diese Röhren gut bewachsen waren, wurden Verdünnungen angelegt und Agarplatten gegossen. In 5—6 Tagen entwickelten sich dann die Kolonien.

Harrison und Barlow geben eine gute Beschreibung der Koloniefomen, auf Grund deren wir unsere Kulturen neben mikroskopischer Kontrolle immer wieder, auch nach Beendigung des Versuches, auf Reinheit prüften, wobei wir besonders von dreieckigen oder elliptischen Tiefenkolonien weiterimpften, die sich dann zu scharf begrenzten, erhabenen und viskoswerdenden Oberflächenkolonien entwickelten.

Platten oder flüssige Kulturen, die die geringsten Anzeichen einer möglichen Verunreinigung aufwiesen, wurden verworfen.

Während die Agarkulturen nur zur Erhaltung der Bakterienstämme benutzt wurden, haben wir uns zu den Versuchen selbst immer eines flüssigen Mediums bedient. Als Kulturgefäße dienten uns 1-l-Erlenmeyerkolben, die mit durchbohrten Gummistopfen verschlossen wurden. Durch die Bohrungen dieser Gummistopfen tauchten 3 Glasröhren in die Kulturgefäße. Zwei davon dienten zur Lüftung der Kultur und konnten durch Glashähne verschlossen werden. Sowohl das Zuleitungs-, als auch das

Ableitungsrohr war mit einem Chlorkalziumröhrchen versehen, das mit Watte dichtgestopft war, um Fremdinfektionen beim Begasen auszuschließen. Das 3. Glasrohr war ein Heber, der in eine feine Glasspitze auslief. Durch ihn konnte mit der nötigen Vorsicht mehrfach steril von der Kultur abgezapft werden. Nachdem nun dieser gesamte Apparat mit der Nährlösung im Autoklaven bei 1½—2 Atm. sterilisiert war, wurde, um unvollständige Sterilisation auszuschließen, erst nach 3—4 Tagen beimpft und sämtliche Verschlüsse mit Picein gedichtet.

Durch diese Anordnung war es uns möglich, die Kulturen gut mit Gas zu durchperlen und nicht nur oberflächlich bestreichen zu lassen. Diese Begasung der Kulturen erschien nicht allein zur Fortführung etwa entstehenden Kohlendioxyds nötig. Hatten wir auf Grund des oben geschilderten Befundes, wonach im Bakteroidengewebe ein Redoxsystem mit tiefem Potential vorhanden ist, annehmen können, daß dieses System auch für die Bakterien selbst zur physiologischen Wirkung kommt und für diese anaerobe Lebensbedingungen zu schaffen vermag, ergaben sich andererseits zwingende Gründe gegen die Auffassung, daß Bact. radicicola ein strenger Anaerobiont sei. Wohl hatten auch Féhér und Bokor nachgewiesen, daß es möglich ist, das Bakterium auf Bohnenextraktagar anaerob zu kultivieren. Wir fanden aber, daß reiner Sauerstoff und in genau demselben Maße Luft in jedem Falle die Kultur begünstigt. So schreibt auch schon Mazé, daß die Bakterien während der Stickstoffbindung freien Luftzutritt benötigen und daß sie sich in einer Atmosphäre von reinem Stickstoff überhaupt nicht entwickeln. Kraschenninnikoff stellte eine Aufnahme atmosphärischen Stickstoffs durch Knöllchen auch nur dann fest, wenn bedeutende Mengen Sauerstoff zur Verfügung standen. Der Sauerstoff vermag sogar in Kulturen, die infolge ungünstiger Bedingungen seit 4 Wochen fast keine Bakterienzunahme mehr zeigten, innerhalb eines Tages schon eine sichtbare Bakterientrübung hervorzurufen, die, wie die mikroskopische und bakteriologische Kontrolle zeigte, lediglich durch Bact. radicicola hervorgerufen war. Über das Verhalten der Bakterien im Stickstoffstrom wird im späteren Zusammenhange zu berichten sein. Doch soviel kann schon gesagt werden, daß die Lebensäußerungen in Anaerobiose nur sehr schwach sind, ja, wir werden zeigen, daß besonders zum Anwachsen einer Kultur ein hohes Oxydationspotential vorhanden sein muß.

Stickstoffquelle: Die Knöllchenbakterien sind imstande, sich bei Abwesenheit von gelösten Stickstoffverbindungen zu entwickeln. Freilich ist das Wachstum dadurch so schwach, daß von zahlreichen Autoren dieses Ergebnis nicht auf eine Bindung molekularen Stickstoffs, sondern auf Verunreinigungen zurückgeführt wurde. Die geringste Stickstoffgabe ist schon von außerordentlich günstiger Wirkung auf das Wachstum und es scheint, daß Kaliumnitrat besonders gut verwertet wird. Daß dabei kaum Ammoniak, jedoch salpetrige Säure angereichert wird, zeigten Beijerinck und Pohlmann. Auch Müller und Stapp fanden Nitritbildung. Das kann von uns bestätigt werden. Verschiedene Gründe machen es wahrscheinlich, daß die fehlende Ammoniakanreicherung auf seiner schnellen Assimilation beruht, und Beobachtungen sprechen dafür, daß bei saurem Medium die so gebildeten Aminosäuren mit salpetriger Säure unter Entbindung von molekularem Stickstoff reagieren, was nach anderen, nicht-veröffentlichten Untersuchungen des Königsberger Laboratoriums (vgl. Mothes, 1938) eine weitverbreitete Erscheinung ist. Die von Pohlmann ferner auf ihre Verwertbarkeit geprüften Aminosäuren werden gut genutzt, was wir für das Tyrosin bestätigen können. Anscheinend werden sie zuerst an der Aminogruppe verändert und desaminiert.

Während nach Versuchen von Müller und Stapp Ammonsalze geeignet sind, verhielten sich unsere Stämme abweichend. Unsere Potentialuntersuchungen in Kulturen, die 0,016% Ammonsulfat bzw. Harnstoff enthielten, lassen fast eine Giftwirkung auf das Bakterium vermuten (vgl. Versuch 9). Wie wir noch sehen werden, ist ein nicht zu tiefes Redoxpotential für das Anwachsen der Kulturen entscheidend. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß die oxydierten Stickstoffverbindungen selbst unter anaeroben Bedingungen

ein günstiges Potential ermöglichen, was durch unsere elektrischen Messungen begründet werden konnte.

Die Amerikaner empfehlen zur Kultur seit langer Zeit den Hefekochsaft, und man kann in ihm ein gutes Wachstum beobachten. Sicherlich sind leicht verwertbare Stickstoffverbindungen darin vorhanden, die den Bakterien gute Entwicklung ermöglichen. Vielleicht spielen auch irgendwelche Wuchskatalysatoren eine Rolle. Auf jeden Fall aber verleiht er der Nährlösung ein hohes Potential und möglicherweise ersetzt er den Bakterien den freien Sauerstoff, auf dessen günstige Wirkung wir schon verwiesen und worauf wir ausführlich zurückkommen.

Azidität: Die Wasserstoffionenkonzentration ist ein bedeutender Faktor für ein optimales Wachstum aller Organismen. Hinsichtlich unseres Bakteriums ist hier zu sagen, daß schon Mazé 1899 zwei Gruppen unterschieden hat, solche von sauren und solche von alkalischen Böden. Fred und Davenport zeigten, daß die verschiedenen Rassen der Knöllchenbakterien auch auf verschiedene Säuregrade verschieden reagieren. Ihre kritischen p_H-Werte liegen um 4,3—4,5. Für Lupinenknöllchenbakterien wird sogar noch ein $p_H = 3{,}2$ angegeben. Im alkalischen Gebiet liegt die Grenze etwa bei $p_H = 9{,}6$. Virtanen und Hausen geben ein Optimum für das Bakterienwachstum bei $p_H = 6{,}5—7{,}5$ an.

Nach diesen Versuchen war zu erwarten, daß die verschiedenen Rassen des Knöllchenbakteriums sich verschieden verhalten. Unsere Form zeigt folgendes: Ihr Wachstum war bei $p_H = 6$ deutlich am besten, besitzt aber eine große Amplitude. Auch in ungepufferten Lösungen wächst es gut an, die es je nach der Kohlenstoffquelle verschieden stark ansäuert. Wird zu solchen Kulturen eine Lösung mit höherem p_H gebracht (z. B.: 7), so flocken die Bakterien, die erst diffus verteilt waren aus, und scheiden sich am Boden kahmhautartig ab.

Diese Ergebnisse stimmen mit den oben geschilderten auffälligen Verhältnissen im Knöllchen überein. Wir können sagen, in Reinkultur wachsen die Bakterien bei Aziditätsverhältnissen optimal, wie sie auch im Bakteroidgewebe der jungen Knöllchen vorhanden sind. Dadurch gewinnt die Tatsache an Bedeutung, daß dieses zentrale Knöllchengewebe sich von dem übrigen Wurzelgewebe in bezug auf die Azidität so stark unterscheidet.

Wir können nicht beurteilen und haben dem keine weiteren Untersuchungen gewidmet, ob das günstige p_H des Knöllchens von den Bakterien selbst erzeugt wird. In ungepufferten Kulturmedien steigern sie jedenfalls die Wasserstoffionenkonzentration ganz wesentlich darüber hinaus.

Im Zusammenhang mit der hier gestellten Aufgabe interessierten diese Fragen zunächst nicht über die gemachte Erfahrung hinaus. Wir haben auf ihr fußend möglichst alle Kulturen auf ein p_H um 6 herum gebracht und uns immer der Phosphatpufferung bedient. Die eigene Säureproduktion der Bakterien senkt freilich bald das p_H. Entscheidend zeigte sich aber für alle künftigen Versuche zunächst das schnelle Anwachsen beim optimalen $p_H = 6$.

Kohlenstoffgabe: Unsere Untersuchungen am Knöllchen hatten ergeben, daß sie mit Glukose, Fruktose und Saccharose ihr tiefes Potential schneller ausbildeten als mit Mannit, daß sie ferner während der Messung im Stickstoffstrom gegenüber dem Mannit das Medium viel stärker ansäuerten. Wir schlossen daraus, daß Mannit nicht so gut von dem Bakteroidengewebe und von den Bakterien verwertet wird wie die anderen C-Quellen. Wenn wir in den folgenden Versuchen nun doch meistens Mannit veratmen bzw.

vergären lassen, so nur deswegen, weil wir in diesem Alkohol einen Körper vor uns haben, der kein eigenes Redoxpotential ausbildet, was unseren Untersuchungen besonders zustatten kommt. Nach Müller und Stapp werden fast alle üblichen Kohlenhydrate, auch die Alkohole Mannit, Dulzit und Glyzerin, als C-Quelle gut von den Bakterien verwertet. Hinsichtlich der Glukose möchten wir aber anführen, daß sie bei Abwesenheit von Hefekochsaft das Anwachsen der Bakterien verhindert (vgl. S. 17, Nährlösung II). Auch Allison und Hoover berichten über ein schlechtes Wachstum auf Nährlösungen mit sehr reinem Zucker. Auch die Gegenwart von Kaliumnitrat hatte keinerlei Erfolg. Wir führen diese Tatsache auf Grund der unten zu schildernden Befunde darauf zurück, daß die Glukose für das Anwachsen der Bakterien ein zu tiefes Potential ($r_H = 7$ nach Wurmser) ausbildet. Um eine allgemeine Ernährungswirkung des Hefesaftes kann es sich dabei nicht entscheidend handeln; vielmehr scheint das hohe Potential des Saftes ausschlaggebend zu sein, denn man kann ihn durch oxydiertes Tyrosin ersetzen. Hefekochsaft zeigt normal ein Potential um $r_H = 22$. In Gegenwart von Glukose erhält man etwas tiefere Werte (bis $r_H = 18$), diese Potentiale sind offenbar für die Entwicklung noch zuträglich. Die obengenannten Autoren fanden, daß ein alkohollöslicher Stoff aus Hefe die Atmung der Bakterien und damit indirekt das Wachstum fördert. Allyn und Baldwin zeigten, daß in einem Medium, das Hefesaft und Mannit enthält, bei $p_H = 7$ ein gutes Wachstum möglich ist. Bei Fehlen des Hefesaftes und Anwesenheit von Kaliumnitrat stellen sie keinerlei Entwicklung fest. Dies dürfte wohl damit in Einklang zu bringen sein, daß eben $p_H = 7$ doch ungünstig wirken muß. Natürlich fragt es sich, ob das, was wir für unsere Bakterien ermittelt haben, auch für die Trifolium-Rasse, mit der diese Autoren arbeiteten, gültig ist. Sie selbst meinen, daß das im Mannit-Nitrat-Medium herrschende Potential zu hoch für eine Entwicklung sei. Wir können aber kaum annehmen, daß ein solches Medium ein reversibles Oxydo-Redoxionssystem ausbildet. Zugabe von Kalziumchlorid soll das Wachstum wieder fördern.

Ansäuerung: Die Wurzelknöllchenbakterien bilden aus den ihnen gebotenen Kohlenhydraten Säuren, und zwar bilden sie nach Walker aus Monosacchariden mehr Säure als aus Di- und Trisacchariden oder gar aus hochmolekularen Alkoholen. Welcher Art aber diese gebildeten Säuren sind und in welchem Verhältnis ihre Menge zu der des verwerteten Zuckers steht, darüber wissen wir noch nichts.

Zu dem Befund Virtanens, daß die Knöllchenbakterien Buttersäuregärer seien, haben wir in der Einleitung schon berichtet, daß wir das Auftreten dieser Säure nie beobachten konnten. Sehr interessant ist der Befund von Anderson, Peterson und Fred, die zeigen, daß Xylose, Glukose, Laktose und Mannit von Alfalfa-Knöllchenbakterien langsam vergoren werden. Als Oxydationsprodukt von Glukose und Laktose wird Brenztraubensäure nachgewiesen.

Das würde sehr wahrscheinlich machen, daß auch Milchsäure entsteht, die mit Brenztraubensäure ein reversibles Oxydationssystem bildet. Der Chemismus des Kohlenhydratabbaus ist von großer Bedeutung, da damit die erreichbaren Redoxpotentiale zusammenhängen dürften.

Von unseren Versuchen mit Vicia Faba-Bakterien sollen hier nur einige mit Mannit wiedergegeben sein, die ein Bild dafür geben, wie verschieden stark und schnell die Ansäuerung vor sich geht, je nach den Er-

nährungsbedingungen. Die genannten Nährmedien sind unten eingehender beschrieben (vgl. S. 16—17).

Mannit und Hefekochsaft (Medium I) gestatten beim Stehen an Luft ein mittleres Wachstum und in 14 Tagen wird eine Ansäuerung von $p_H = 6{,}72$ auf $p_H = 6{,}37$ beobachtet. Wird der Hefekochsaft durch Harnstoff (0,016%) (Medium V) ersetzt, wächst die Kultur sehr träge an. Nach 4 Wochen ist die Flüssigkeit erst leicht getrübt. Der p_H-Wert ist unverändert. Im Gegensatz hierzu wirkt der Ersatz des Hefekochsaftes durch Tyrosin, 0,03% (Medium VI) wesentlich günstiger. Die Kultur wächst schnell an. Dementsprechend sinkt das p_H schon innerhalb 8 Tagen von 5,95 auf 5,10. Bei den mit Stickstoffgas durchblasenen Kulturen (Anaerobiose) wurde allgemein kein Anwachsen in den entsprechenden Zeiten beobachtet. Ebenso kein Absinken des p_H. Das gilt für die Kombinationen Hefesaft mit Mannit und Glukose, Harnstoff mit Mannit und Glukose, Nitrat mit Mannit und Glukose. Die Ausnahme wird durch Tyrosin gebildet, das neben Mannit auch in Anaerobiose ein Anwachsen ermöglicht und eine Ansäuerung bedingt.

Bedeutsam ist der Einfluß der Sauerstoffdurchblasung bzw. Durchlüftung. In allen Versuchen wächst dann die Kultur gut und ziemlich gleichmäßig an. Die Ansäuerung ist dann immer sehr stark. Das gilt auch für Tyrosinkulturen, die in Anaerobiose ein p_H von ungefähr 5,5 erreichten. Nun folgende Durchlüftung senkte das p_H in wenigen Tagen auf 4,5—4,6.

Atmungsquotient: Über den Gasstoffwechsel des Knöllchenbakteriums liegen bisher ebenfalls wenige Untersuchungen vor. Auch wir haben nur orientierende Analysen mit Hilfe der Warburg-Apparatur durchgeführt, nachdem Thorne, Neal und Walker auf ähnlichem Wege hinsichtlich der verschiedenen Rassen zu recht gegensätzlichen Ergebnissen gekommen waren. Weder deren, noch unsere Ergebnisse können befriedigen, solange wir nichts über den Chemismus des Gasstoffwechsels wissen. Es ist durchaus denkbar, daß z. B. bei Nitratgabe viel gasförmiger Stickstoff frei wird, oder daß im Kohlenhydratabbau Wasserstoff entsteht. Bei allen manometrischen Methoden muß eine solche Gasproduktion zu hohe CO_2-Werte bzw. zu geringen Sauerstoffverbrauch vortäuschen. Unsere Werte stellen deshalb auch nur einen Beitrag für eine endgültige Lösung des Problems dar. In Glukose-Hefesaft-Kulturen betrug der Atmungsquotient $\frac{CO_2}{O_2}$ 0,7; bei Mannit-Hefesaft 0,5—0,6, bei Mannit-KNO_3 etwas mehr als 1. Da diese Werte mehrfach mit nur geringen Schwankungen erhalten wurden, stellen sie doch wahrscheinlich ein charakteristisches Merkmal des Stoffwechsels dar.

Reduktionspotential in Bakterienreinkulturen.

Geschichte: Seitdem Potter (1911) gezeigt hatte, daß bei der Veratmung organischer Verbindungen durch Mikroorganismen elektrische Energie frei wird und Gillepsie 9 Jahre später nachwies, daß die Oxydoreduktionspotentiale ein Maßstab für die Intensität sind, mit der die biologischen Oxydationen und Reduktionen ablaufen, ist dieser Forschungszweig in der Bakteriologie und Enzymologie besonders durch die Arbeiten aus der Schule von M. W. Clark und R. Wurmser stark gefördert worden.

Es würde zu weit führen, in diesem Zusammenhange noch einmal auf die Methodik und die Ergebnisse der Messung der Oxydoreduktionspotentiale einzugehen, und wir möchten auf die zusammenfassenden Arbeiten von L. Michaelis und R. Wurmser hinweisen, während die diesbezüg-

lichen neuen Arbeiten in den Fortschritten der Botanik von Bünning und Mothes unter Angabe der Literatur referiert werden.

Uns interessierten hier aber die Tatsachen, daß nach Plotz und Geloso zum Wachstum der Mikroben ein bestimmtes Potential nötig ist, und daß nach Aubel, Aubertin und Genevois ein Zusammenhang besteht zwischen dem Potential des Mediums und den darin wachsenden Organismen und deren Stoffwechsel (vgl. auch Green and Stickland, Messing, Quastel and Wetham, Kusnetzow, Elema, Kluyver und van Dalfsen, Kluyver und Hoogerheide, wie auch Hoogerheide).

Gillepsie fand 1920, daß Mischkulturen aus tiefen Bodenschichten fast das Potential einer reinen Wasserstoffelektrode, die ein $r_H = 0$ hat, erreichen, während die Aerobier keine so tiefen Potentiale bedingen. Nach Chambers, Cohen, Pollack und Reznikoff ist der r_H-Wert unter anaeroben Bedingungen nicht größer als 7,5, eher kleiner und für Aerobiose konnte gezeigt werden, daß der r_H-Wert zwischen 13 und 18 liegt (vgl. S. 15).

Auch für unser Bakterium liegen einige Angaben über die Reduktionsleistung vor. Beijerinck konnte nur eine schwache Reduktionskraft feststellen, da Indigoblau nach seinen Angaben nicht reduziert wird. Nach Müller und Stapp werden Indigosulfonat und Methylenblau zur Leukobase, Natriumselenit und Kaliumtellurit zum Metall reduziert. Alle diese Untersuchungen sind aber mehr im Hinblick auf eine Differentialdiagnose angestellt worden. Später konnten Allyn und Baldwin zeigen, daß auch für das Wachstum von Bact. radicicola das Oxydoreduktionspotential des Mediums von großem Einfluß ist. Ein mit Kaliumpermanganat oder Wasserstoffsuperoxyd zu hoch oxydiertes Medium ist für die Entwicklung ungünstig. Die Giftigkeit dieser Substanzen kann aufgehoben werden durch eine entsprechende Beschwerung auf ein negatives Potential, teils mit Cystein, teils mit Thioglykolsäure, die ebenso wie das Cystein zur Disulfidform dehydriert werden kann. Hinsichtlich ihrer Methodik müssen wir erwähnen, daß sie die zur elektrometrischen Messung notwendige Anaerobiose allein dadurch erzwingen, daß sie die Untersuchungsflüssigkeit gegen die Atmosphäre mit Vaseline abschließen; was wir für unzureichend halten müssen. Leider können wir die Ergebnisse unserer elektrometrischen Messungen nicht mit denen von Allyn und Baldwin vergleichen. Sie arbeiten bei $p_H = 7$. Zwar geben sie an, daß der p_H-Wert im Laufe der Entwicklung sinkt, versäumen aber, die p_H-Werte anzugeben, die zu den mitgeteilten E_h-Werten gehören.

Eigene Versuche: Wir werden unsere eigenen Versuche in dieser Beziehung derart aufzeigen, daß wir die Nährmedien und ihre Potentiale sowohl in Anaerobiose wie in Luft gemessen mitteilen. Wir werden weiter zeigen, wie die Bakterien ihr Medium verändern und wie sich eine längere Anoxybiose bzw. Luft oder reiner Sauerstoff auf das Potential auswirkt.

Die Nährlösung I, auf der wir unser Bakterium züchteten, setzte sich zusammen aus:

Mannit	20	Teile
K_2HPO_4	0,5	„
$MgSO_4$	0,2	„
NaCl	0,1	„
$CaSO_4$	0,005	„
10% Hefekochsaft	100	„
Aqua dest.	900	„

Den Hefekochsaft stellten wir her, indem wir 100 g Bäckerhefe in 1 l Wasser aufschwemmten, 2 Std. im Thermostaten bei 25° C stehen ließen und dann bei 2 Atm. sterilisierten. Die Lösung konnte sich dann 2—3 Tage im Eisschrank absetzen. Diese ungepufferte Lösung zeigt ein $p_H = 6{,}72$.

Im Stickstoffstrom stellt sich an der Redoxelektrode ein Wert von $E_h = +0{,}294$ V. ein. Das ergibt ein $r_H = 23{,}6$. Wir haben hier keine Veranlassung, von einem negativen Potential zu sprechen wie Allyn und Baldwin, und die Bakterien entwickeln sich in diesem Medium sehr gut.

Wird Mannit durch Glukose ersetzt, so resultiert in der sterilen Nährlösung II ein $E_h = 0{,}198$ V., was bei einem $p_H = 5{,}77$, einem $r_H = 18{,}34$ entspricht. Auch in diesem Medium kann eine gute Entwicklung der Bakterien beobachtet werden, gegenüber einem Medium, das keinen Hefesaft enthält, der das tiefe Zuckerpotential, das nach Wurmser bei $r_H = 7$ liegt, in positivem Sinne beschwert.

Ein weiteres Nährmedium III hat folgende Zusammensetzung:

Mannit	20	Teile
K_2HPO_4	0,5	„
KNO_3	0,5	„
$MgSO_4$	0,2	„
NaCl	0,2	„
$FeCl_3$	0,001	„
$MnSO_4$	0,005	„
H_2O	1000	„

Von diesem Medium behaupten Allyn und Baldwin, daß sich das Bakterium wegen des zu hohen Oxydationspotentials nicht entwickeln könne. Da sie aber ohne Zusatz der beiden Schwermetallsalze experimentierten, so wird sich an der Redoxelektrode kein festes Potential einstellen können. Das Bakterium wird also keine unnötige Energie aufbringen müssen, ein stark positiv beschwertes Potential herabzudrücken, sondern kann sein Eigenpotential sofort der Lösung mitteilen. Auch der Zusatz der beiden oxydierenden Schwermetallsalze ist einer günstigen Entwicklung nicht hinderlich.

Die Wasserstoffionenkonzentration dieser Lösung entspricht einem p_H-Wert $= 6{,}34$, und das durch die Gegenwart der Metallsalze sich fest einstellende Potential ist $r_H = 23{,}1$.

Nährlösung IV. Die bis jetzt genannten Kulturflüssigkeiten waren nie gepuffert. Wollen wir eine Pufferung erzielen, so geben wir statt der 0,5 Teile K_2HPO_4 0,372 g K_2HPO_4 und 0,107 g Na_2HPO_4 zu der sonst üblichen Nährlösung I (Mannit-Hefekochsaft). Der p_H-Wert dieser Lösung ist 5,85 und der r_H-Wert $= 22{,}61$, gemessen im Stickstoffstrom. Leitet man durch diese Lösung nach erreichter Konstanz im Stickstoffstrom Luft hindurch, so ist das Potential, das sich an der Elektrode einstellt, nicht wesentlich verschieden von dem, das in Anaerobiose gemessen wird, nämlich $r_H = 23{,}51$. Ob dieser „Luftmessung" eine thermodynamische Berechtigung zukommt, d. h. ob man bei diesen Messungen von einem E_h und einem r_H sprechen kann, mag dahingestellt bleiben. Die Anregungen zu diesen Messungen empfingen wir aus der Arbeit von Hoogerheide, der zeigt, daß der Zutritt von Sauerstoff zu Hefezellen sich in einem Anwachsen des Redoxpotentials des Mediums äußert, und daß für die Höhe des Potentials der Quotient Atmung : Gärung verantwortlich ist.

Nährlösung V. Harnstoff bzw. Ammonsulfat in 0,016% an Stelle des Hefesaftes zeigt weder in Luft, noch im Stickstoff ein festes Potential an der Platinelektrode. Der p_H-Wert ist 6,57.

Nährlösung VI. Schließlich haben wir den Hefekochsaft noch durch 0,03% Tyrosin ersetzt. Eine Nährlösung mit 0,03% Dioxyphenylalanin wurde durch Melaninbildung unbrauchbar. Auch nach Sterilisation durch ein Seitz-EK-Filter trat Melaninbildung ein und wir waren gezwungen, das Dioxyphenylalanin erst dann dem Medium

zuzusetzen, nachdem die Kultur bereits angewachsen war und in der Nährlösung schon ein genügend tiefes Potential ausgebildet war.

Versuch 7 (vgl. Abb. 5):

Wird nun eine sterile Nährlösung I beimpft und 14 Tage bei 25° bebrütet, so können wir an der Redoxelektrode im Stickstoffstrom folgende Potentiale messen:

Beginn: 19.10 Uhr.		
	20.50 Uhr	— 0,198 V.
	22.15 Uhr	— 0,281 V.
	24.00 Uhr	— 0,350 V.
	10.30 Uhr	— 0,350 V.

Das Potential bleibt somit bereits nach wenigen Stunden konstant. Nach dieser Zeit der Anaerobiose ist der p_H-Wert 4,59.

Daraus errechnet sich bei 25°: $E_h = -0{,}106$ V.
$E'_h = +0{,}1652$ V.
$r_H = 5{,}6$.

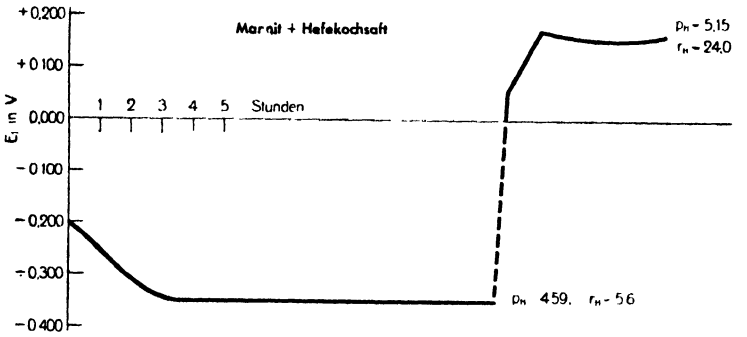


Abb. 5.

Nachdem die Durchleitung von Stickstoff beendet war, wurde Luft durch das Untersuchungsgefäß gesogen, die eine Waschflasche mit Kalilauge und eine mit Schwefelsäure zu passieren hatte. Auch im Luftstrom stellt sich ein festes Potential an der vergoldeten Platinelektrode ein, was aus folgenden Werten hervorgeht:

Beginn: 10.40 Uhr.		
	11.00 Uhr	+ 0,063 V.
	12.00 Uhr	+ 0,170 V.
	14.00 Uhr	+ 0,155 V.
	15.00 Uhr	+ 0,155 V.
	16.00 Uhr	+ 0,158 V.

Bei $p_H = 5{,}15$ und 25° ist:

$E_h = +0{,}402$ V.
$E'_h = +0{,}708$ V.
$r_H = 24{,}0$.

Dieser r_H-Wert ist also nicht wesentlich verschieden von dem der unbeimpften sterilen Nährlösung, der ja im Stickstoffstrom zu $r_H = 23{,}6$ gemessen wurde, und von dem der Nährlösung IV, die sich ja von dieser Nährlösung I nur durch die Pufferung unterscheidet. Das Potential der sterilen Nährlösung IV in Luft gemessen, kennen wir als $r_H = 23{,}51$.

Dieser Versuch wurde mit gut gewachsener Kultur mit dem gleichen Ergebnis wiederholt. Wenn wir Kulturen nach kurzer Anwachszeit messen, so daß kaum eine Trübung vorhanden ist, so beobachten wir regelmäßig

höhere Potentiale, z. B. nach 6—8 Tagen $r_H = 13—10$. Auffällig ist dabei, daß diese Potentiale elektrometrisch gut reproduzierbar sind; die konstanten E_1-Werte stellen sich ebenso schnell ein, wie bei der unbeimpften Lösung (mit $r_H = 23$) und der gut bewachsenen Kultur (mit $r_H = 5—7$).

Diese Kulturen waren bei geschlossenen Gaszuleitungs-Hähnen angewachsen, so daß ihnen nur die bescheidene Sauerstoffmenge der im Kulturgefäß vorhandenen Luft zur Verfügung stand. Das entscheidende Ergebnis ist, daß, wie im Knöllchenversuch, auch die Bakterienreinkulturen ausgesprochen anaerobe Potentiale auszubilden imstande sind. Das Potential ist jedoch nicht konstant, wie der folgende Versuch zeigt.

Versuch 8 (vgl. Abb. 6):

Im Mannit-Nitrat-Medium (Nährlösung III), ebenfalls bei geschlossenen Hähnen kultiviert, messen wir nach 9 Tagen folgende E_1-Werte:

Beginn: 13.00 Uhr.	
13.30 Uhr	— 0,048 V.
15.00 Uhr	— 0,153 V.
16.30 Uhr	— 0,193 V.
17.30 Uhr	— 0,198 V.
18.15 Uhr	— 0,201 V.
19.50 Uhr	— 0,215 V.
22.45 Uhr	— 0,231 V.
9.50 Uhr	— 0,240 V.
12.00 Uhr	— 0,240 V.

Bei $p_H = 6{,}71$ und 22° berechnet sich:

$E_h = + 0{,}007$ V.
$E'_h = — 0{,}399$ V.
$r_H = 13{,}6$.

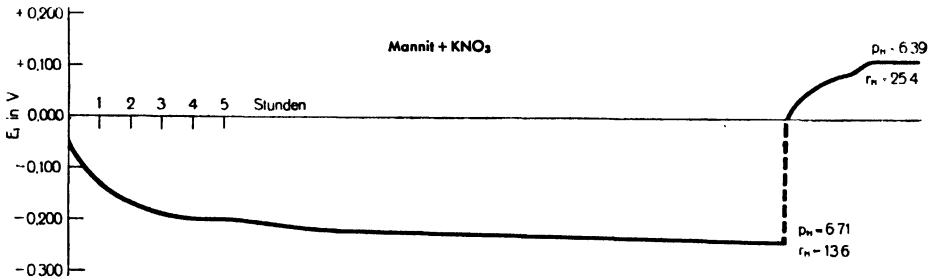


Abb. 6.

Wird der Stickstoff durch Luft verdrängt, stellen sich folgende Potentiale ein:

Beginn: 12.15 Uhr.	
12.20 Uhr	+ 0,006 V.
12.50 Uhr	+ 0,050 V.
13.20 Uhr	+ 0,075 V.
14.15 Uhr	+ 0,096 V.
14.30 Uhr	+ 0,113 V.
14.44 Uhr	+ 0,116 V.
16.30 Uhr	+ 0,116 V.

Bei 18° und $p_H = 6{,}39$ ist:

$E_h = + 0{,}366$ V.
$E'_h = + 0{,}733$ V.
$r_H = 25{,}4$.

Auch hier finden wir ein verhältnismäßig tiefes Potential. Es liegt jedoch wesentlich höher als im ersten Mannitversuch, was wohl auf das Nitrat zurückzuführen ist. Das Potential hat bereits einen fast aeroben Charakter. Die Durchlüftung läßt das r_H wieder zu einer ähnlichen Höhe ansteigen. Dies entspricht der Ausgangsnährlösung.

Versuch 9 (vgl. Abb. 7):

Beachtenswert sind die Potentiale, die die Bakterien im Medium V entwickeln, wo der Hefekochsaft durch Harnstoff ersetzt ist. Wie wir schon in anderem Zusammenhange erwähnten, wächst diese Kultur nur sehr schlecht an. Die Lösung wurde am 27. Juli beimpft und zeigte erst am 18. August einen schwachen Bewuchs. Wie es die Werte zum Ausdruck bringen, fällt aber das Potential jetzt nicht wie üblich ab, sondern wir beobachten eine ansteigende Kurve, die einen festen Endwert annimmt.

Beginn: 16.00 Uhr.

16.30 Uhr	— 0,019 V.
17.25 Uhr	+ 0,003 V.
18.30 Uhr	+ 0,016 V.
20.50 Uhr	+ 0,025 V.
22.00 Uhr	+ 0,050 V.
8.00 Uhr	+ 0,060 V.
15.00 Uhr	+ 0,060 V.

Bei $p_H = 6{,}62$ und 25° berechnet sich:

$E_h = + 0{,}304$ V.
$E'_h = + 0{,}695$ V.
$r_H = 23{,}5$.

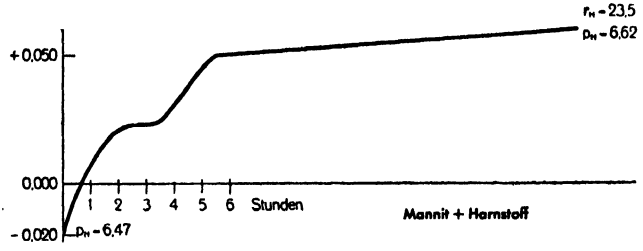


Abb. 7.

Hier ist nun beim Einleiten der Luft kein so starker Anstieg wie gewöhnlich zu beobachten, sondern die Kurve läuft langsam nach oben weiter und erreicht nach 4 Std. einen konstanten Wert: $r_H = 27{,}3$.

Ein ähnlicher Fall, daß die Potentialkurve ansteigt, wird von Kluyver aufgezeigt. Länger bebrütete Harnstoffkulturen vermochten jedoch tiefere Potentiale zu entwickeln.

Ähnliche Verhältnisse wie beim Harnstoff sind auch für Ammonsulfat zutreffend. Auch hier finden wir eine ansteigende Kurve in einer sehr langsam gewachsenen Kultur. Am 29. Juli wurde beimpft, am 20. August ist eine schwache Trübung vorhanden und die Kultur wird auf ihre Reduktionskraft untersucht.

Beginn: 12.00 Uhr.

12.30 Uhr	— 0,148 V.
16.00 Uhr	— 0,074 V.
17.10 Uhr	— 0,060 V.
17.50 Uhr	— 0,052 V.
18.50 Uhr	— 0,039 V.

21.30 Uhr . . . . . — 0,030 V.
22.45 Uhr . . . . . — 0,030 V.
10.45 Uhr . . . . . — 0,026 V.

Bei $p_H = 5{,}3$ und 21° ist:

$r_H = 18.21.$

Versuch 10:

Nährlösung VI enthält Tyrosin statt Hefekochsaft. Die gute Verwertbarkeit des Tyrosins äußert sich, wie wir bereits erwähnten, im schnellen und dichten Bewuchs und in der Ansäuerung. Schon nach 8 Tagen kann die Kultur benutzt werden.

Am Ende der Potentialbestimmung im Stickstoffstrom nach 22 Std. ist $p_H = 4{,}95$ und bei 18° ist:

$E_h = + 0{,}088$ V.
$E'_h = + 0{,}373$ V.
$r_H = 12{,}9.$

Sofort anschließend wird Luft durch das Versuchsgefäß geleitet. Nach 4 Std. ist der Endwert erreicht, der 2 Std. konstant bleibt und wir messen bei $p_H = 4{,}83$ und 15° ein:

$E_h = + 0{,}448$ V.
$E'_h = + 0{,}723$ V.
$r_H = 25{,}3.$

Diese Versuche wurden wiederholt und reproduziert; in den Messungen, die große Sorgfältigkeit erfordern, können keine versteckten Fehlerquellen (Sauerstoff, Infektionen) beteiligt sein. Wir fassen sie zusammen:

Die Bakterienreinkulturen vermögen sehr tiefe, ausgesprochen anaerobe Redoxpotentiale zu entwickeln, namentlich, wenn sie schnell angewachsen sind, Gegenwart von Hefesaft, der selbst ein r_H von 24 entwickelt, fördert die Reduktionskraft der Bakterien. Alle Versuche sind mit Mannit gemacht. Mit Glukose erhielten wir geringe Abweichungen. Da aber deren Eigenpotential stört, haben wir auf die weitere Verwendung verzichtet.

Nitrat und Tyrosin beeinflussen das Potential sehr stark, sie erhöhen es, trotz der guten Beeinflussung des Wachstums.

In allen Fällen läßt nachträgliche Sauerstoffdurchleitung annähernd übereinstimmende Potentiale von $r_H = 22$—27 erzielen, die den r_H-Werten der unbeimpften Nährmedien weitgehend entsprechen, doch immer etwas höher liegen. Die Sauerstoffeinleitung bewirkt auch hierbei allgemein eine Ansäuerung.

Sehr langsamwüchsige Kulturen (ohne Hefesaft, Nitrat, Tyrosin) bilden die Potentiale schlecht aus, sie liegen höher als bei den schnellwüchsigen.

Dasselbe gilt für an sich schnellwüchsige Kulturen, wenn sie frühzeitig, ohne daß die Bakterien gut angewachsen sind, gemessen werden, z. B. beobachteten wir für Mannit-Hefesaftkulturen, wenn wir sie statt nach 14 Tagen schon nach 6—8 Tagen auf ihr r_H prüften, nicht die tiefen Werte von 5—7, sondern solche von 10—13.

Einfluß von Aerobiose und Anaerobiose auf das spätere Potential.

Mit diesen Versuchen war festgestellt, daß die Kulturen keineswegs immer das gleiche Potential ausbildeten. Bestimmte Stoffe im Medium wirkten entweder beschwerend oder veranlaßten die Bakterien, verschiedene Eigenpotentiale zu entwickeln. Ganz besonders mußte aber auffallen, daß mäßig entwickelte Kulturen immer höhere Potentiale hatten als gut entwickelte. Das legte nahe, den Einfluß des Vorlebens der Kulturen zu beachten.

Vor allem müssen Aerobiose und Anaerobiose die Bakterien tief beeinflussen. In dieser Richtung sind eine Reihe von Versuchen angestellt worden, über die kurz berichtet wird.

Versuch 11:

Medium IV (Mannit, Hefesaft, Puffer), 8 Tage bebrütet, $r_H = 13{,}24$. Dieser Wert entspricht der erwähnten allgemeinen Tatsache, daß noch mäßig entwickelte Kulturen nicht die tiefen Werte erreichen. Danach weitere 6 Tage unter sauerstofffreiem Stickstoff (Anaerobiose). Anschließende Messung im Stickstoffstrom.

Am Ende des Versuches nach 22 Std. ist bei 24° $p_H = 4{,}89$.

$E_h = 0{,}054$ V.
$E'_h = 0{,}325$ V.
$r_H = 10{,}8$.

Wird nun der Stickstoff durch Luft verdrängt, so ergibt sich bei $p_H = 4{,}84$ und 21°

$E_h = + 0{,}407$ V.
$E'_h = + 0{,}692$ V.
$r_H = 23{,}15$.

Versuch 12:

Wird nun eine gut angewachsene Tyrosinkultur (Medium VI) mit einem $r_H = 12{,}9$ 8 Tage unter Stickstoff gehalten, so sinkt das in Anaerobiose gemessene Potential auf ein $r_H = 11{,}1$. Das Luftpotential steigt aber auch nicht über $r_H = 12{,}5$ hinaus.

Dieser sehr auffälligen Tatsache, daß eine längere Zeit bebrütete Tyrosin-Kultur in Luft so niedriges Potential ausbildet, begegnen wir noch mehrfach.

Wird eine eben erst angewachsene 6tägige Kultur mit Mannit und Hefesaft (r_H also etwa 13—10) 6 Tage strenger Anaerobiose unterworfen, wachsen die Bakterien schlecht, und es beträgt das $r_H = 10{,}8$. Wird nun die Kultur für nur 2 Std. mit Sauerstoff beschickt und dann sofort wieder im Stickstoffstrom gemessen, erreicht man nicht wieder 10,8, sondern nur 12,4.

Versuch 13:

Wird nun die gleiche, erst mäßig angewachsene Kultur, nicht der Anaerobiose, sondern sofort auf 12 Tage dem Einfluß des Sauerstoffs unterworfen, vermehren sich die Bakterien sehr gut und wir messen im Stickstoffstrom nach einer Gasdurchleitung von 23 Std. bei $p_H = 4{,}39$ und 25° ein $E_h = -0{,}042$ V., das weitere 4 Std. konstant blieb. Dies entspricht einem $E'_h = +0{,}217$ V. und einem $r_H = 7{,}37$.

Wird anschließend Luft durch das Untersuchungsgefäß gesogen, so ist bei 24° nach 3 Std.:

$E_h = + 0{,}456$ V.
und $E'_h = + 0{,}698$ V. } das nach weiteren 11 Std. nicht mehr verändert ist.
$r_H = 23{,}9$.

Versuch 14:

Ebenso zeigte eine erst wenig entwickelte Hefesaft-Mannit-Kultur (r_H im Stickstoffstrom = 11,45, r_H Luft = 22,2) bei 9tägiger Belüftung ein r_H-Stickstoff 8,86 und ein r_H-Luft = 24,6.

Wurden Harnstoffkulturen, die für 8 Tage anaeroben Bedingungen ausgesetzt ($r_H = 10$) waren, ähnlich wie im vorletzten Versuch 2 Std. dem Sauerstoffeinfluß unterworfen, stieg auch hier das im Stickstoff sofort gemessene Potential erheblich an, $r_H = 14{,}9$. Im Luftstrom betrug das Potential 20,5.

Eine weitere mäßig gewachsene Harnstoffkultur wird aber mit Sauerstoff durchblasen, sie zeigte im Stickstoffstrom ein $r_H = 13{,}9$, im Luftstrom ein $r_H = 22{,}7$. Danach blieb sie 9 Tage in Anaerobiose; sie zeigte dann im Stickstoffstrom ein $r_H = 10{,}0$, das sich wenig präzis einstellte, und im Luftstrom ein $r_H = 24{,}78$, das sich gut einstellte.

Versuch 15:

Wesentlich anders verhalten sich Tyrosinkulturen. Wie oben schon vermerkt, behalten sie genau so wie Nitratkulturen auch bei guter Wüchsigkeit recht hohe Potentiale. Wird eine solche 8tägige Kultur (r_H-Stickstoff = 13,6) 8 Tage mit reinem Sauerstoff behandelt, so zeigt sich ein r_H-Stickstoff von 12,3.

Versuch 16:

Eine ähnliche Kultur, 8 Tage belüftet, zeigte ein r_H-Stickstoff = 14,19 und ein r_H-Luft = 18,8; 8 Tage mit Sauerstoff behandelt zeigte sie r_H-Stickstoff = 12,4 und r_H-Luft = 21,3. Diese geringe Beeinflußbarkeit der Tyrosinkultur äußert sich genau so in Anaerobiose (s. Versuch 12); auch dann fällt das r_H nicht unter 11 und steigt im Luftstrom nur mäßig an.

Wenn wir zunächst auch keine präzise Vorstellung dafür vermitteln können, wie die verschiedenen hier erhaltenen Potentiale stoffwechselphysiologisch zu deuten sind, lassen sich doch einige allgemeine Gesichtspunkte gewinnen. Bact. radicicola bildet nicht grundsätzlich in Anaerobiose oder in Aerobiose je ein bestimmtes Redoxpotential aus. Vielmehr stellen sich mit der zunehmenden Entwicklung der Kultur immer tiefere Potentiale ein bis zu einem r_H von etwa 5. Solche Potentiale können also um so schneller entwickelt werden, je schneller die Kultur heranwächst. Alle wachstumsfördernden Bedingungen beschleunigen also auch die Herausbildung der großen Reduktionskraft. Zu diesen Bedingungen gehört eine gute Durchlüftung. Fördernd wirken auch Hefesaft und Tyrosin.

Langsam-wüchsige Kulturen, z. B. unter Sauerstoffmangel stehende, oder solche, bei denen Hefesaft oder Tyrosin durch Harnstoff oder Ammoniumsulfat ersetzt sind, bilden nicht grundsätzlich hohe Potentiale, sondern bedürfen viel längerer Zeit, um niedere Potentiale zu entwickeln.

Es ist also die Lebenstätigkeit der Bakterien selbst, die letztlich die Potentiale bestimmt. Aber das Milieu fördert oder hemmt diesen Prozeß.

Daneben müssen wir jedoch annehmen, daß eine beschwerende Wirkung von Substratstoffen gelegentlich die Potentialbestimmung der Bakterien nicht möglich macht oder erschwert. Wir vermieden deshalb Glukose und Nitrat, beobachteten aber beim Tyrosin ein eigentümliches Verhalten. Obwohl Tyrosin das Wachstum fördert, zeigen solche Bakterien nie die extrem tiefen Potentiale, gleichgültig, ob wir in Anaerobiose oder Aerobiose kultivieren. Darin möchten wir eine wesentliche Voraussetzung vermuten dafür, daß die Bakterien allein bei Tyrosingabe in Anaerobiose gut wachsen ($r_H > 12$!), während sonst Sauerstoffmangel entscheidend hemmt.

Wenn nun einerseits sehr gut gewachsene Kulturen sehr tiefe Potentiale entwickeln können, gilt andererseits, daß ein Nährmedium mit tiefem aktuellen Potential die Kultur nicht gut anwachsen läßt. Wir gewinnen den Eindruck, daß Potentiale unter 20 und über 12 für das Anwachsen besonders günstig sind. In solchen Medien können sich Kulturen auch bei Anaerobiose entwickeln. So wie wir bei dem Knöllchengewebe unterscheiden mußten zwischen der wirklich entfaltbaren Reduktionskraft und dem aktuellen Oxy-

dationsreduktionszustand, müssen wir es auch in der Bakterienkultur. Und wir sehen, daß übereinstimmend mit dem Knöllchen die optimalen Kulturen sich am besten bei einem mittleren r_H entwickeln, selbst aber sehr niedrige Potentiale auszubilden imstande sind. Es ist nun sehr schwierig, den aktuellen Redoxzustand zu ermitteln. Die E_1-Werte bei Luftdurchleitung geben vielleicht gewisse Anhaltspunkte. Und dabei finden wir in großen Zügen, daß auch diese Werte nicht völlig konstant sind; sie schwanken aber um $r_H = 25$. Nur die Werte der Tyrosinkulturen weichen wesentlich ab. Auch da scheint sich wieder die beschwerende Wirkung des Tyrosinsystems zu äußern. Oft sieht es danach aus, als ob Kulturen, die im Stickstoff ein besonders niederes Potential zeigen, in Luft ein extrem höheres entwickeln. Wir wollen aber auf Grund des vorliegenden Materials keine weiteren Schlüsse ziehen.

Der Einfluß des Dioxyphenylalanin auf die Bakterienkultur.

Im vorigen Abschnitt wurde der eigentümliche Einfluß des Tyrosins auf die Potentialgestaltung in einer Bakterienkultur wie auch die Wachstumsförderung festgestellt.

Stapp hat für einige Knöllchenbakterienrassen Tyrosinase nachweisen können. Den Bakterien der Vicia-Gruppe jedoch fehlt sie; ferner wird von Müller und Stapp berichtet, daß diejenigen Rassen, die das Ferment nicht besitzen, auch nicht in der Lage sind, das Tyrosin zu oxydieren. Wir bestätigen diese Feststellung. In unseren Versuchen konnten wir auch weder in Aerobiose noch in Anaerobiose irgendeine Verfärbung der Nährlösung, die 0,3 g Tyrosin auf 1 l enthielt, beobachten.

Ganz anders aber verhalten sich Knöllchen und Bakterien gegen Dioxyphenylalanin, ein normales Oxydationsprodukt des Tyrosins. Dioxyphenylalanin wird durch Knöllchenbakterien in Reinkultur und Aerobiose sehr leicht zu „rotem Körper" und weiter zu Melanin oxydiert. Die erste sichtbare Oxydationsstufe „roter Körper" kann durch die gleiche Kultur ohne weiteres wieder reduziert werden. Auch diese Reduktion ist reversibel, so daß in einer Dioxyphenylalanin-haltigen Kultur ein grundsätzlich beliebig wiederholbares Wechselspiel zwischen farblosem Reduktionsprodukt und „rotem Körper" getrieben werden kann, durch einfachen Wechsel von Anaerobiose in Aerobiose, vorausgesetzt, daß die Oxydation nicht über den „roten Körper" hinausgeht.

Das ist aber in einer gut-wüchsigen Kultur keineswegs leicht der Fall. Aktive Bakterien halten auch bei Luftzutritt die Oxydationsstufe des „roten Körpers" sehr lange, sofern dessen Konzentration nicht zu hoch ist; hemmt man aber das Bakterienleben durch Chloroformzusatz, tritt sehr schnell Melaninbildung auf. Diese Ausbildung des schwarzbraunen Farbstoffes geht sicher in etlichen Teilschritten vor sich, die z. T. reversibel, z. T. aber nicht reversibel sind (vgl. Raper). Ein tiefschwarzes Melanin kann durch aktive Bakterien nicht wieder aufgehellt werden, auch nicht in strenger Anaerobiose. Bakterienbefreite Filtrate von Bakterienkulturen oxydieren bei Luftzutritt ohne weiteres Dioxyphenylalanin zu Melanin.

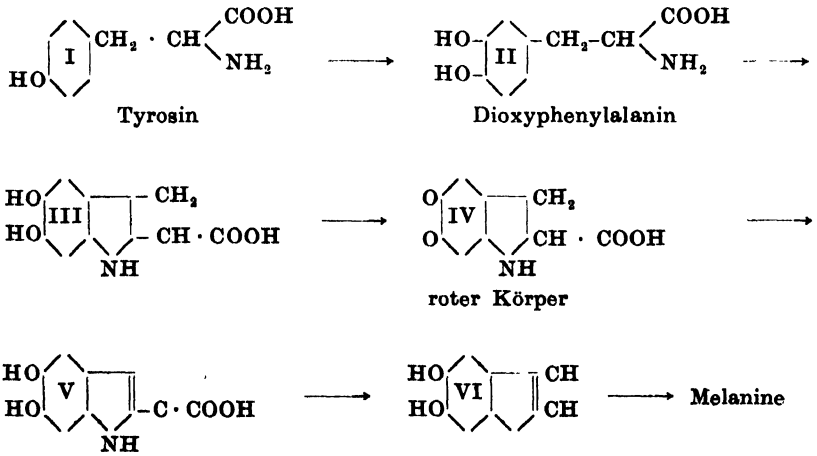
Eigentümlich ist aber folgender Vorgang. Wenn wir Bakterien durch Abkühlen auf 5° (nach Müller und Stapp das Wärmeminimum) hemmten, beobachteten wir von der luftberührten Oberfläche der Kultur her eine

langsame Dunkelfärbung, die bei älteren Kulturen also nicht eintritt. Nach 3 Tagen waren diese Kulturen sehr dunkel. Brachten wir darauf den Kolben wieder in Zimmertemperatur, trat eine bemerkenswerte Aufhellung ein. Ob dabei schwarze Praemelanine wieder reduziert werden, oder ob kolloidale Veränderungen entscheidend sind, können wir nicht beurteilen. Jedenfalls war der typisch rote Farbton ohne weitere Nachdunklung festzustellen. Er ging dann im Laufe von 14 Tagen in einen grünlichen Ton über, ähnlich dem des alternden Knöllchens, ohne daß die dort beobachtete Intensität erreicht wurde. Über solche grüne Derivate des roten Körpers ist m. E. bisher nichts bekannt. Die chemische Erforschung dieses Prozesses mußte außerhalb unserer Aufgaben liegen.

Eine solche grüne Verfärbung unter dem Einfluß von Luftzutritt beobachteten auch Baldwin und Fred und auch Jones. An in Wasser gesättigten, schlecht durchlüfteten, aber nährstoffreichen Böden waren reichlich junge Knöllchen an den Wurzeln entstanden, die nach Bloßlegung offenbar durch die starke Sauerstoffwirkung sich von rot nach grünlich-braun verfärbten.

Die Untersuchungen mit Dioxyphenylalanin gewannen nun noch ein besonderes Interesse dadurch, daß dieser Körper das Bakterienwachstum ganz bedeutend steigert, und zwar sowohl in Anaerobiose als auch in Aerobiose. In allen Versuchen wurde Dioxyphenylalanin kalt sterilisiert durch Ultrafiltration mittels eines Seitz-EK-Filters. Dabei läuft das Filtrat immer etwas schwach gelblich-rötlich durch. In Berührung mit dem Metall und dem Luftsauerstoff ist also schon eine gewisse Oxydation eingetreten. Diese verstärkt sich mit dem Stehen an der Luft. Wenn wir also jetzt von Dioxyphenylalanin sprechen, müssen wir immer berücksichtigen, daß es sich um ein Gemisch von Dioxyphenylalanin und rotem Körper und den dazwischenliegenden Oxydationsstufen usw. handelt (s. Schema nach Raper).

Schema nach Raper.



Nach Friedheim bildet der rote Körper (IV) mit der Substanz III ein reversibles Redoxsystem.

Diese Dioxyphenylalaninlösung wurde Bakteriensuspensionen zugesetzt, die so weit verdünnt wurden, daß von einer ausgesprochenen Trübung nicht mehr die Rede sein konnte. Diese Bedingung ist für die sichere nephelometrische (Pulffrich-Photometer) Messung des unterschiedlichen Bakterien-

wachstums ein großer Vorteil. Alle Bakterienkulturen wurden in folgender Lösung kultiviert.

Mannit	20	Teile
KH_2PO_4	0,5	„
$CaNO_3$	0,01	„
$MgSO_4$	0,2	„
NaCl	0,1	„
$FeCl_3$	0,001	„
$MnCl_2$	0,005	„
H_2O	1000	„

Die Versuche selbst geschahen in Thunbergröhren, in denen 10 ccm Bakteriensuspension mit 1 ccm Dioxyphenylalaninlösung unter sterilen Bedingungen zusammengebracht wurden. Alle Kulturen wurden bei 25° 1 Tag lang bebrütet und auf das Ausbleiben von Infektionen sorgfältig geprüft. Ein Teil der Röhren wurde scharf evakuiert, wodurch eine vielleicht noch nicht extreme Anaerobiose erreicht wurde. Der andere Teil wurde der Luft ausgesetzt.

Versuch Nr.	Dopa 1 ccm	relative Trübung			
		Aerobiose	Bemerkungen	Anaerobiose	Bemerkungen
17	0,01% gelblich	17,92 11,41		32,15 34,0	
18	0,02% gelblich	5,5 5,6 7,3		19,8 17,4 29,4	
19	0,02% gelblich	13,9 10,0		59,9 37,6	
20	0,04% gelblich	7,1 4,1 4,2	oben dunkler Ring	13,7 12,8 12,9	
21	0,08% gelblich	17,95 31,06	oben dunkler Ring	45,7 53,5	
22	0,01% farblos (reduziert)	13,9 13,9		24,6 27,3	
23	0,01% rot (oxydiert)	10,7 14,6		43,2 50,0	

Daß die hier beobachteten Unterschiede nicht etwa auf das Evakuieren zurückzuführen sind, ergibt sich aus den regelmäßig und gleichzeitig durchgeführten Kontrollen. Im allgemeinen zeigten die stark verdünnten und deshalb kaum getrübten Kulturen bei eintägiger Bebrütung ohne Dioxyphenylalanin überhaupt keine sicher meßbare Trübungszunahme. In einer Kontrollserie gingen wir von einer schon anfänglich stärker getrübten Kultur aus, wovon 10 ccm in Thunberg-Röhren mit 1 ccm Wasser (ohne Dioxyphenylalanin) versetzt wurden. Diese behandelten wir weiter wie oben.

Versuch Nr.	Dopa 0 ccm	relative Trübung	
		Aerobiose	Anaerobiose
24	0% 1 ccm H_2O	17,1 18,5 17,2 16,8	22,6 17,8 14,9 22,0

Daraus ersieht man einmal die relativ große Nephelometer-Differenz bzw. die individuelle Schwankung, andererseits ist deutlich, daß die aeroben und anaeroben Kulturen sich prinzipiell gleich verhalten.

Aus diesen Versuchen geht nun folgendes hervor:

Ohne Zweifel fördert Dioxyphenylalanin das Bakterienwachstum ganz bedeutend. Während in den Kontrollen überhaupt kaum eine Trübung auftrat, war sie in Versuchen mit Dioxyphenylalanin immer deutlich und sogar sehr stark, trotz der kurzen Versuchszeit. Die Trübung war aber nicht nur von Dioxyphenylalanin abhängig, sondern von dessen Konzentration und von der Sauerstoffzufuhr. Bei hoher Konzentration trat unter Luftzutritt Melaninbildung auf; die Bakterien konnten sich offenbar dieses Prozesses nicht erwehren bzw. ihre Tendenz, den Sauerstoff selbst an sich zu reißen, war zu schwach. Bei geringeren Konzentrationen hielt sich aber die blaßrote Färbung auch in Aerobiose. Die Bakterien müssen also ein Oxydationspotential aufrechterhalten können, bei dem trotz Luftzutritt die Melaninbildung unterbleibt. Auf keinen Fall handelt es sich dabei etwa um eine andersartige Umwandlung des Dioxyphenylalanin; vielmehr sind alle diese Kulturen zur Melaninbildung befähigt.

Auffällig ist weiter und nicht als eine Zufälligkeit zu deuten, daß bei Anaerobiose in Gegenwart von Dioxyphenylalanin das Wachstum viel besser ist als bei Aerobiose. Besonders wirkt sich das aus, wenn man Dioxyphenylalanin als roten Körper zugibt (Versuch 23). Am wenigsten aber, wenn man Dioxyphenylalanin reduziert zugibt (Versuch 22). Das zeigen die beiden letzten Versuche, die von gleichen Standkulturen ausgingen. Die Trübungen in Gegenwart von reduziertem Dioxyphenylalanin und „rotem Körper" verhalten sich wie 24,6 : 50,0 bzw. 27,3 : 43,2.

Daraus schließen wir aber, daß nicht Dioxyphenylalanin selbst die Wachstumsförderung bedingt, sondern ein Oxydationsprodukt, der „rote Körper". In Anaerobiose erhält sich dieser niedere Oxydationszustand sehr lange. In Aerobiose geht er leicht in höhere Zustände über, die sich durch beginnende Melaninbildung kundtun.

„Roter Körper" wirkt demnach ganz ähnlich fördernd auf die Bakterienkulturen wie ein Sauerstoffstrom in Gegenwart von Hefesaft. In beiden Fällen werden selbst alte, schlecht entwickelte anaerobe Kulturen schnell zu neuem Wachstum angeregt. Wir sind nicht geneigt, in Dioxyphenylalanin oder im „roten Körper" einen spezifisch wachstumsfördernden Körper zu sehen, sondern eine Substanz, mit deren Hilfe ein für das Bakterienwachstum geeignetes Oxydationspotential gesichert werden kann.

Wir ermittelten in mehreren Versuchen den r_H-Wert in Kulturen mit „rotem Körper" und erhielten als Norm $r_H = 16{,}0$. Bei langer Stickstoffbehandlung sank er auf 15,54, bei langer Sauerstoffbehandlung sank der r_H (im Stickstoffstrom gemessen) auf 13,6.

E. Schlußbetrachtungen.

Zwei Probleme stehen im Vordergrund des Bakterien-Leguminosen-Verhältnisses: die Spezifität der Bakteriensymbiose und der Mechanismus der Stickstoffbindung. Wir haben uns zunächst dem ersten Problem zugewandt.

Dieses erlangt eine besondere Bedeutung, wenn man bedenkt, daß Bact. radicicola in synthetischen Kulturen leicht gedeiht, also keine

spezifischen Anforderungen an Nährsubstrate stellt, daß es in den Böden weit verbreitet ist und immer wieder die Leguminosen neu infiziert, daß wir andererseits kein Beispiel dafür kennen, daß auch Arten anderer Familien durch dasselbe Bakterium gelegentlich befallen werden können. Leichte Kultivierbarkeit, Anspruchslosigkeit und Spezifität des Wirtes: sollte man nicht meinen, daß hiermit geradezu Gegensätze erfaßt werden? Haben wir nicht die Vorstellung, daß spezifischer Parasitismus oder spezifische Wirtsabhängigkeit ein Ausdruck einer besonderen Spezialisierung ist, die universale Verbreitung geradezu ausschließt.

Unsere Befunde zeigen, daß in dem Bakteriengewebe der Knöllchen besondere Azidität und besondere Oxydationszustände (roter Körper = oxydiertes Dioxyphenylalanin) herrschen, daß das Gewebe eine hohe Reduktionskraft im Stickstoffstrom entwickeln kann. Normales Wurzelgewebe zeigt tiefere Oxydationszustände (reduziertes Dioxyphenylalanin) und niedere Azidität. Unter dem Einfluß der Bakterien scheinen sich also in den Wurzeln diese wichtigen Bedingungen für die Fermentprozesse und Lebensvorgänge überhaupt grundlegend zu ändern.

In den Bakterienkulturen der von uns untersuchten Rasse zeigt sich Azidität und Redoxpotential abhängig von Substrat, Sauerstoffzufuhr und Vorleben. Günstiger p_H in unseren Kulturen ist etwa 6, entspricht also dem des Knöllchengewebes. Die Kulturen wachsen am besten bei guter Sauerstoffzufuhr oder bei Vorhandensein von oxydierten Körpern (Hefesaft, Nitrat). Die Wirkung der Sauerstoffbegasung kann aber ebenso oder noch schneller durch Zusatz von schwach oxydiertem Dioxyphenylalanin also von „rotem Körper" hervorgerufen werden. Während in strenger Anaerobiose Bact. radicicola nicht anwächst, ist dies in Gegenwart von oxydiertem Dioxyphenylalanin möglich!

Aktive Kulturen halten bei Sauerstoffgegenwart Dioxyphenylalanin in der oxydierten roten Phase, sofern dessen Konzentration nicht zu hoch ist. Inaktive lassen es zu Melanin oxydieren. Aktive reduzieren in Stickstoff bei völligem Sauerstoff-Abschluß den roten Körper zur Leukobase.

Erhalten wir die besten Wachstumsergebnisse in Gegenwart des „roten Körpers", so entsprechen dieser Tatsache die gemessenen Redoxpotentiale der Kulturen. Nach Friedheim besitzt das System „roter Körper-Leukobase" einen r_H-Wert von etwa 15. Unter $r_H = 15$ würde der „rote Körper" reduziert vorliegen. Im Bakteroidengewebe ist er jedoch immer als „roter Körper" vorhanden, solange die Knöllchen nicht altern. Andererseits zeigen die Knöllchen im Luftstrom ganz wie die Bakterienkulturen ein r_H von etwa 24. Bei diesem r_H wird der „rote Körper" noch nicht zu Melanin oxydiert. Das Bakterienleben im Knöllchen spielt sich somit zwischen $r_H = 15$ und $r_H = 24$ ab.

In Reinkulturen konnten wir im Stickstoffstrom wie im Sauerstoffstrom in Gegenwart von „rotem Körper" ein r_H von 15—16 ermitteln. Kulturen mit tieferem Potential (anaerobe Kulturen) gingen wohl nicht zugrunde, aber sie zeigten kein Wachstum. Alle untersuchten Kulturen zeigten im Luftstrom gemessen ein Potential von rund 25. Daraus schließen wir, daß die Bakterien-Entwicklung in der Reinkultur im wesentlichen zwischen $r_H = 15$ und 25 sich abspielt, d. h. aber genau so wie beim Knöllchen. Und auch die optimale Azidität der Kultur stimmt mit der des Bakteroidgewebes überein ($p_H = 6$).

Nun ist bisher allein in den Leguminosen Dioxyphenylalanin als regelmäßiger Bestandteil gefunden worden (s. Wehmer und Hadders). Während dieser Körper aber in allen Leguminosengeweben reduziert aufzutreten scheint und durch Oxydation mit Wasserstoffsuperoxyd oder Chinon sichtbar gemacht werden kann, liegt er normal allein in den aktiven Knöllchen als „roter Körper", d. h. oxydiert vor. Wie in den aktiven Bakterienkulturen wird der „rote Körper" auch im Knöllchengewebe, solange sie gesund sind, weder weiter oxydiert noch zur farblosen Stufe reduziert.

Uns scheint danach, daß Bact. radicicola in den Leguminosen durch das Vorhandensein von Dioxyphenylalanin so angeregt wird, daß es in ihnen ein starkes Wachstum beginnen und die Entwicklung des Knöllchengewebes auslösen kann.

Uns scheint weiterhin, daß hier wohl wesentliche Hintergründe einer spezifischen Symbiose erhellt worden sind, ohne daß damit gesagt sein soll, daß nicht noch andere Faktoren bei dieser Symbiose mitwirken, was schon daraus zu folgern ist, daß ein strenges Angepaßtsein von Radicicola-Rassen an bestimmte Leguminosen-Arten bekannt ist.

Wie steht es nun mit der Stickstoffbindung. Wir wollen uns auf den Hinweis beschränken, daß ausgerechnet die in Sauerstoff gewachsenen oder mit oxydiertem Dioxyphenylalanin versehenen Kulturen auch in Stickstoff tiefste Oxydationspotentiale entwickeln und nicht etwa höchste. Die Reduktionskraft der Bakterien ist unter den Lebensbedingungen des Knöllchengewebes die höchste. Vielleicht liegt hier der Schlüssel zum Verständnis der Stickstoffbindung, die eine Reduktion ist.

Das stünde in Übereinstimmung unter anderem mit folgenden Literaturangaben: Nobbe und Hiltner fanden, daß die in Wasserkulturen gebildeten Knöllchen nur eine geringe Aktivität besitzen. Erniedrigten sie den Wasserspiegel des Kulturgefäßes, so begann an den Wurzeln, die aus dem Wasser ragen, eine rege Knöllchenentwicklung, die ein verstärktes Wachstum der Pflanze infolge erhöhter Stickstoffassimilation verursacht. Ließen sie den Wasserspiegel wieder ansteigen, so beobachteten sie Entwicklungsstillstand der Knöllchen und Wachstumshemmung der ganzen Pflanze, wodurch sie zeigten, daß die Stickstoffbindung nicht in den Blättern, sondern in den Knöllchen erfolgt. Kraschenninnikoff konnte zeigen, daß eine Stickstoffaufnahme durch die Knöllchen festzustellen ist, wenn ihnen bedeutende Mengen Sauerstoff zur Verfügung stehen. Endlich behauptet Mazé, daß den Bakterien während der Stickstoffbindung freier Luftzutritt nötig ist, daß sie sich in reinem Stickstoff überhaupt nicht entwickeln. Er hat aber seine Kulturen nie gelüftet, d. h. Luft hindurchgesaugt, sondern nur die über der Kultur befindliche Luft beobachtet und in seine Berechnungen einbezogen.

F. Zusammenfassung.

Die physiologischen Bedingungen im Wurzelknöllchen von Vicia Faba und in einer Reinkultur von Bacterium radicicola werden vergleichend untersucht.

1. Das Bakteroidengewebe des Knöllchens besitzt eine Azidität von ungefähr $p_H = 6$, das Rindengewebe der Knöllchen und die Wurzel zeigen ein p_H um 3,5.

2. Bakterienreinkulturen wachsen optimal bei $p_H = 6$. Die Bakterien bilden vor allem in Aerobiose organische Säure; Ammoniumsalze und Harnstoff hemmen diesen Prozeß. Es handelt sich nicht um eine Buttersäurebildung.

3. Das Bakteriengewebe der Knöllchen besitzt ein Redoxpotential, im Stickstoffstrom gemessen, von $r_H = 9$—11 bei $p_H = 7$ und ein $r_H = 4$—6

bei $p_H = 6$. Das Bakteriengewebe ist also in der Lage, eine hohe Reduktionskraft zu entwickeln.

4. Bakterienkulturen verhielten sich im Stickstoffstrom wie ganze Knöllchen, sie bildeten sehr tiefe Potentiale aus. Im Luftstrom wurde ein einheitliches Potential $r_H = 22—24$ erreicht.

5. Bakterienwachstum ist normalerweise nur in Aerobiose möglich. Sauerstoff fördert das Wachstum.

6. Dioxyphenylalanin, schwach oxydiert („roter Körper"), gestattet ein gutes Bakterienwachstum auch in Anaerobiose. Dabei sinkt der r_H-Wert im Stickstoffstrom gemessen nicht unter 13.

7. Der Oxydationszustand des Bakteriengewebes des Knöllchens ist charakterisiert durch die Gegenwart des „roten Körpers". Damit entsprechen die im Knöllchen herrschenden Bedingungen den optimalen Bedingungen der Kulturen.

8. Da aber Dioxyphenylalanin nun in den Leguminosen regelmäßig vorkommt und allein in dem gesunden Knöllchen als „roter Körper" auftritt, wird ihm eine wichtige Rolle beim Zustandekommen der Leguminosensymbiose zugeschrieben.

9. Die Bakterienkulturen entwickeln im Stickstoffstrom ein um so tieferes Potential ($r_H < 7$), je länger sie mit Sauerstoff vorbehandelt sind. Die Ausbildung der reduzierenden Systeme ist also von der Wüchsigkeit der Kulturen abhängig. Ob hier ein Schlüssel zum Verständnis der Stickstoffbindung liegt, bleibt noch zu untersuchen.

Die vorliegende Arbeit wurde ausgeführt auf Veranlassung von Herrn Professor Dr. Mothes.

Herrn Professor Dr. Mothes möchte ich hier meinen aufrichtigen Dank sagen für die vielseitigen, weit über den Rahmen der Arbeit hinausgehenden Anregungen, die ich in der Zeit, in der ich unter ihm arbeiten durfte, empfing.

Schrifttumsnachweis.

Allan, F., Ztschr. f. Pflanzenernährung u. Düngung. A. Bd. 20. 1931. S. 270. — Allison, F. E., and Hoover, S. R., Journ. Bact. Vol. 27. 1934. p. 561. — Allyn, W. P., and Baldwin, J. L., Journ. Bact. Vol. 20. 1930. p. 417; Vol. 23. 1932. p. 369. — Anderson, J. A., Soil Sci. Vol. 28. 1929. p. 305. — Anderson, J. A., Peterson, W. H., and Fred, E. B., Soil Sci. Vol. 25. 1928. p. 123. — Aubel, E., Aubertin, E., et Genevois, L., Ann. de Physiol. et Physico-Chemie Biol. T. 5. 1929. p. 1 et 123. — Baldwin, J. L., and Fred, E. B., ref. in: Journ. Bact. Vol. 17. 1929. p. 17. — Beijerinck, M. W., Bot. Ztg. Bd. 46. 1888. S. 726, 741, 757, 781, 797; Bd. 48. 1890. S. 837; Verzamelde Geschriften. Delft 1921. — Berthelot, M., Compt. Rend. Acad. Sci. T. 108. 1889. p. 700; T. 101. 1885. p. 775; T. 115. 1892. p. 569, 637, 737; T. 116. 1893. p. 842; T. 109. 1889. p. 277; T. 104. 1887. p. 205, 625. — Blom, J., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 84. 1931. S. 60. — Brooks, M., Amer. Journ. of Physiol. Vol. 76. 1925. p. 360. Protoplasma. Bd. 10. Heft 4. 1930. — Cannan, R. K., Cohen, B., and Clark, M. W., Supplement Nr. 55 (1926) to the Publ. Health. Rep. — Chambers, R., Cohen, B., and Pollak, H., Journ. Exp. Biol. Vol. 8. 1931. p. 1. Brit. Journ. Exp. Biol. Vol. 6. 1929. p. 229. — Christiansen-Weniger, F., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 58. 1923. S. 41. — Clark, W. M., Proc. Soc. Amer. Bacteriologists Abstracts Bact. Vol. 4. 1920. p. 2. — Cohen, B., Chambers, R., and Reznikoff, P., Journ. Gen. Physiol. Vol. 11. 1928. p. 585. — Cohen, B., Journ. Bact. Vol. 21. — Ehrlich, P., Das Sauerstoffbedürfnis der Zelle. Berlin 1885. — Elema, B., Kluyver, A. J., und v. Dalfsen, Bioch. Ztschr. Bd. 270. 1934. S. 318. — Fehér, D., und Bokor, R., Planta. Vol. 2. 1926. p. 406. — Frank, B., Ber. d. dtsch. bot. Ges. Bd. 7. 1889. S. 332. Bd. 8. 1890. S. 292. Bot. Ztg. Bd. 37. 1879. S. 377 u. 393. Landw. Jahrb. Bd. 19. 1890. S. 523; Bd. 21. 1892. S. 1. — Fred, E. B., Baldwin, J. L., and Mc. Coy, E., Root

Nodule Bacteria and Leguminous Plants. Univ. of Wisc. Studies in Sci. No. 5. 1932. — Fred, E. B., and Davenport, A., Journ. Agr. Research. (U. S.) Vol. 14. 1918. p. 317. — Friedheim, E. A. H., Naturwissenschaften. Bd. 21. 1933. S. 177. — Georgi, C. E. und Wilson, P. W., Arch. Mikrobiol. Bd. 4. 1933. S. 543. — Gillespie, L. J., Soil Sci. Vol. 9. 1920. p. 199. — Girtschanoff, K., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 92. 1935. S. 349. — Green Stickland, L. H., Biochem. Journ. Vol. 28. 1934. p. 898. — Guggenheim, M., Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. 88. 1913. S. 276. — Harrison, F. C. und Barlow, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 19. 1907. S. 264. — Hellriegel, H. und Wilfahrt, H., Beih. z. d. Ztschr. Ver. Rübenzuckerind. d. Deutschen Reiches. 1888. S. 234. — Hoogerheide, J. C., Bijdrage tot de Kennis van reactie van Pasteur. (Engl. Zusammenfassung.) — Idaho, Idaho Agr. Exp. Sta. Bull. Vol. 160. 1928. — Jones, Fr. R., Journ. Amer. Soc. Agron. Vol. 18. 1926. p. 366. — Kellermann, K. F., U. S. Dept. Agr. Bur. Plant. Indus., Circ. Vol. 76. 1911. p. 6. — Kluyver, A. J. und Hoogerheide, J. C., Bioch. Ztschr. Bd. 272. 1934. S. 197. — Konishi, K., and Tsuge, T., Journ. of the Sci. of Soil and Manure, Japan. Vol. 8. 1934. p. 297 (ref. in: Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 93. 1936. S. 304). — Kostytschew, S., Ber. d. dtsch. Bot. Ges. Bd. 40. 1922. S. 112. Lehrbuch d. Pflanzenphysiol. Berlin 1926. — Krassinsky, N., Protoplasma. Bd. 25. 1936. S. 41. — Kraschenninnikoff, T., Festschr. f. A. K. Timiriazeff. 1916. S. 307. (Russisch.) — Kusnetzow, S. J., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 83. 1931. S. 37. — Lehmann, J., Skand. Arch. Physiol. Bd. 58. 1929; Bd. 29. 1930. — Leonhard, L. T., Ref. in: Journ. Bact. Vol. 17. 1929. p. 19. Vol. 21. 1931. p. 35. — Leonhard, L. T., Marsh., F. W., Journ. Bact. Vol. 15. 1928. p. 195. — Linhardt, Journ. of Gen. Physiol. Vol. 3. 1920. — Lipmann, F., Bioch. Ztschr. Bd. 265. 1933. Bd. 268. 1934. — Löhnis, M. P., Soil Sci. Vol. 29. 1930. p. 37. — Löhnis, F., Vorlesungen über landw. Bakteriologie. Berlin 1913. — Mazé, M., Ann. Inst. Pasteur. T. 11. 1897. p. 44. T. 12. 1898. p. 1 et 128. T. 13. 1899. p. 145. — Coy, E. Mc., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 79. 1929. S. 394. — Messing, Bioch. Journ. Vol. 28. 1934. p. 1894. — Michaelis, L., Oxydations-Reduktionspotentiale. II. Auflage. Berlin 1933. — Mothes, K., Forschungsdienst. Bd. 5. Heft 5. 1938. — Mothes, K. und Pietz, J., Naturwiss. Heft 13. 1937. S. 201/202. — Müller, A. und Stapp, C., Arbeiten a. d. biol. Anst. f. Land- u. Forstwirtschaft. Bd. 14. 1925. S. 455. — Neal, O. R., and Walker, R. H., Journ. Bact. Vol. 30. 1935. p. 173. — Needham, J., and Needham, D., Protoplasma. Vol. 1. 1926. p. 255. — Palladin, W., Ber. d. dtsch. Bot. Ges. Bd. 26. 1908. S. 125, 378, 389; Bd. 27. 1909. S. 101; Bd. 29. 1911. S. 472: Bd. 30. 1912. S. 104. Bioch. Ztschr. Bd. 18. S. 151; Bd. 49. 1913. S. 381. — Pfeffer, W., Abhandl. d. math.-phys. Klasse d. kgl. sächs. Ges. d. Wissensch. Bd. 15. 1889. S. 375. — Plotz, H., et Geloso, J., Ann. Inst. Pasteur. T. 45. 1930. — Pohlmann, G. G., Soil Sci. Vol. 31. 1931. p. 385. — Potter, M. C., Proceed. Roy. Soc. B. Vol. 84. 1911. p. 260. — Prazmowsky, A., Bot. Zentralbl. Bd. 36. 1888. S. 215, 248, 280. Landw. Versuchsstat. Bd. 37. 1890. S. 161. Bd. 38. 1891. S. 5. — Quastel, J. H., and Wetham, M. D., Bioch. Journ. Vol. 18. 1924. p. 519. Vol. 19. 1925. p. 19, 645. — Raper, Ergebn. d. Enzymforschung. Bd. 1. 1932. S. 217. Bioch. Journ. Vol. 21. 1927. p. 89. — Rapkin, L., et Wurmser, R., Compt. Rend. Soc. Biol. T. 94. 1926. p. 1347. T. 95. 1926. p. 604. — Rippel, A. und Krause, W., Arch. Mikrobiol. Bd. 5. 1934. S. 14. — Rippel, A., Poschenrieder, H., Journ. f. Landwirtschaft. Bd. 76. 1928. S. 101. — Ruehle, G. L. A., Idaho Agr. Exp. Sta., Bull. Vol. 160. 1928. p. 19. — Schultz-Lupitz, A., Landw. Jahrb. Bd. 10. 1881. S. 777. — Small, J., Hydrogen-Ion-Concentration in Plant Cells and Tissues. Protoplasma-Monographien. Bd. II. Berlin 1929. — Schlösing, Th., et Laurent, É., Compt. Rend. Acad. Sci. T. 111. 1890. p. 750. Ann. Inst. Pasteur. T. 6. 1892. p. 65. — Stapp, C., Bioch. Ztschr. Bd. 141. 1923. S. 42. — Szent-Györgyi, A., Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. 217. 1933. S. 51. — Thunberg, Th., Skand. Arch. Physiol. Bd. 35. 1917. S. 163. Handb. d. Biochem. d. Menschen und der Tiere. 2. Aufl. Erg.-Bd. 1, 2. 1933. Oppenheimer-Pincussen, Die Fermente und ihre Wirkungen. Bd. 3. Leipzig 1928. S. 1118. — Virtanen, A. J. und v. Hausen, S., Bioch. Ztschr. Bd. 232. 1931. Bd. 193. 1928. S. 30. Bd. 258. 1933. S. 1906. Ztschr. f. Pflanzenernährung u. Düngung. A. Bd. 21. 1931. — Vita, N., Bioch. Ztschr. Bd. 245. 1928. S. 210. Bd. 252. 1932. S. 278. — Vita, N. und Sandrinelli, R., Bioch. Ztschr. Bd. 255. 1932. S. 82. — Vita, N., Ergebn. d. Enzymforschung. Bd. 6. — Walker, R. H., Res. Bull. Agr. Exp. Stat. 113. 1928. p. 369. —

Walker, R. H., Anderson, D. A., and Brown, P. E., Soil Sci. Vol. 37. 1933. p. 387. — Ward, H. Marshall, Roy. Soc. (London) Phil. Trans., Ser. B. Vol. 178. 1887. p. 539. Roy. Soc. (London) Proc. Vol. 46. 1889. p. 431. — Wartenberg, H. und Mitarbeiter, Arb. a. d. Biol. Reichsanst. f. Land- u. Forstwirtschaft. Bd. 21. 1935. S. 331, 499. — Wehmer, C. und Hadders, M., in: Klein, G., Handb. d. Pflanzenanalyse. Bd. 4. Teil 3. 1933. S. 184. — Wendel, E., Beitr. z. allgem. Bot. Bd. 1. 1918. S. 151. — Wilhelm, A. F., Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 72. 1930. S. 203. — Winogradsky, S., Compt. Rend. Acad. Sci. T. 116. 1893. T. 118. 1894. Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 9. 1902. — Wurmser, R., Compt. Rend. Acad. Sci. T. 194. 1932. S. 888. Ergebn. d. Enzymforschung. Bd. 1. Oxydations et Réductions. Paris 1930. — Mothes, K., Fortschr. d. Bot. Herausgeg. von F. v. Wettstein. Berlin. — Bünning, E., Fortschr. d. Bot. Herausgeg. von F. v. Wettstein. Berlin.

Herrn Dr. Birukow danke ich für die Übersetzung des russischen Textes.

Nachdruck verboten.

Eine Vereinfachung der Lindner'schen Tröpfchenmethode.

Von Velimir Vučković,

Assistent an der önologischen Station in Vršac (Jugoslawien).

Die erste und wichtigste Aufgabe bei bakteriologischen und mykologischen Arbeiten ist die Gewinnung einer Reinkultur. Daher setzten die Bemühungen um Methoden zur Gewinnung von Reinkulturen schon in der ersten Zeit bakteriologischer Forschung ein. Die ersten Schritte hierzu taten Ehrenberg und Mitscherlich, indem sie ihre Beobachtungen über Zellteilungen und Sprossungen an stark verdünnten und daher verhältnismäßig reinen Kulturen von Bakterien durchführten. Ein weiterer Schritt vorwärts war die Methode Brefelds, die darin bestand, daß eine Aufschwemmung von Pilzsporen so stark verdünnt wurde, daß sich in einem Tropfen nur noch eine Zelle befand. Dieser Tropfen wurde in eine feuchte Kammer gebracht und die Sporenkeimung mikroskopisch beobachtet. Um die Verdünnungsmethode bemühten sich weiterhin Lüster, Nägeli, Fitz und Hansen. Letzterer verbesserte die Methode dahin, daß er die in einem Tropfen enthaltenen Zellen mittels karierter Deckgläschen zählte.

Die Gewinnung einer Reinkultur auf festen Nährböden war unbekannt, bis Robert Koch seine Plattengießmethode erfand, welche der Bakteriologie einen neuen Auftrieb gab und ihr neue Wege zur Untersuchung von Mikroorganismen wies. Kochs Plattenmethode wurde später dahin verändert, daß man organismenhaltiges Material in sterilem Wasser oder in einer physiologischen Nährlösung verdünnte und danach auf der Oberfläche eines festen Nährbodens gut verteilte. Es bilden sich dann auf den Nährböden Kolonien, von denen relative Reinkulturen durch Abimpfen zu gewinnen sind. Nun sind jedoch die so gewonnenen Kulturen noch keine absoluten Reinkulturen. Von einer solchen verlangt man bekanntlich, daß sie von einer einzigen Zelle stammen. Diese Forderung zu erfüllen, gelang Lindner mit seiner Tröpfchenmethode. Es hat sich eingeführt, die Kochsche Plattenmethode mit der Lindnerschen Tröpfchenmethode folgendermaßen zu verbinden:

Man gewinnt zunächst mit der Koch schen Plattenmethode relative Reinkulturen, hebt mit der Platinöse oder Platinnadel eine Kolonie ab und überträgt sie in ein Reagenzglas mit flüssigem Nährboden. Wenn sich die Organismen etwas vermehrt haben, stellt man mit sterilem Wasser oder sterilen Nährlösungen Verdünnungen an. Sodann punktiert man mit steriler Tuschefeder auf ein abgeflammtes Deckgläschen eine Reihe von möglichst kleinen Tröpfchen, legt das Deckgläschen über einen Objektträger mit eingeschliffener Höhlung und dichtet den Rand des Deckgläschens mit Paraffin, Vaseline od. dgl. ab. Hierauf durchmustert man die einzelnen Tropfen und markiert diejenigen Tropfen, welche nur eine einzige Zelle enthalten. Danach läßt man die Zellen sich in den einzelnen Tröpfchen im Thermostaten 2 bis 3 Tage vermehren, bis man mit dem bloßen Auge in den Tröpfchen einen Fleck bemerken kann. Jetzt hebt man das Deckgläschen vom Objektträger und saugt das markierte Tröpfchen mit einem Stückchen sterilen Fließpapier auf und überträgt es in ein Reagenzglas mit Nährlösung. Auf diese Weise gewinnt man eine Reinkultur im strengsten Sinne des Wortes.

Wert und Vorteil der Lindner schen Tropfenmethode ist jedem Mykologen bekannt, ebenso aber auch der Zeitverlust und die Geduld, die ihre genaue Durchführung verlangt.

Ich habe die Lindner sche Tropfenmethode folgendermaßen vereinfacht: Als Verdünnungsmaterial nehme ich steriles Leitungswasser oder physiologische Kochsalzlösung. Letztere bietet den Vorteil, daß bei der Sterilisation keine Kristalle von Kalziumsalzen ausfallen, welche bei der Beobachtung stören. Die nach dem Plattengießverfahren erzielten Kolonien werden mit einer Platinöse abgehoben und in ca. 8—10 ccm steriles Wasser oder physiologische Lösung übertragen und gut durchgeschüttelt. Mit einer sterilen Tuschefeder punktiert man von dieser Verdünnung einen einzigen kleinen Tropfen auf ein Deckgläschen. Es ist von Vorteil, wenn das Deckgläschen etwas fettig ist, weil dann der Tropfen nicht ausläuft, sondern kugelig bleibt. Das Deckgläschen wird wie bei der Lindner schen Tropfenmethode auf einen hohlen Objektträger gebracht, sodann mikroskopieren wir mit schwacher Vergrößerung, um den ganzen Tropfen zu überblicken. Wir stellen dabei fest, wieviel Zellen in dem Tropfen enthalten sind. Stellen wir z. B. fest, daß der Tropfen 3 Hefezellen enthält, so ist es durchaus nicht nötig, mit der Arbeit wieder von vorn zu beginnen und sie solange fortzusetzen, bis wir ein Tröpfchen mit einer einzigen Zelle unter dem Mikroskop haben.

Ich nehme das Tröpfchen mit den 3 Hefezellen mit einer sterilen Platinöse auf, in der sich ein Tropfen eines sterilen Trauben- oder Apfelmostes, Molke, Bohnenbrühe oder einer anderen Nährlösung befindet. Infolge von Oberflächenspannungswirkungen verschmilzt das kleine zellhaltige Tröpfchen auf dem Deckglas leicht mit dem größeren Tropfen in der Öse. Nun übertrage ich auf Schrägagar oder Gelatine diesen Tropfen, indem ich über die Mitte des Agars streiche. Dabei müssen wir natürlich aufpassen, daß die Öse nicht in etwa vorhandenes Kondenswasser taucht. Habe ich alle 3 Hefezellen erfaßt, so bilden sich auf dem Schrägagar 3 Kolonien oder so viele Kolonien, wie wir vorher Zellen im Wassertröpfchen feststellten. Diese Kolonien liegen in der Regel auf dem Agar so weit voneinander entfernt daß man mit Leichtigkeit 3 absolute Reinkulturen davon gewinnen kann. Es kommt vor, daß nicht alle Zellen, welche im Tröpfchen vorhanden waren, erfaßt werden, daß z. B. von 3 Zellen nur 2 Kolonien entstehen. Aber in Anbetracht des geringen Zeitaufwandes bei diesem Verfahren kann man mit Leichtigkeit

mehrere Abstriche vornehmen und erhält mit Sicherheit Schrägkulturen mit der Zahl der Kolonien, welche der beobachteten Anzahl Zellen im Tröpfchen genau entsprechen.

Die Vorteile meiner Abänderung der Lindnerschen Tröpfchenmethode bestehen in folgendem:

1. Ich brauche nicht unbedingt die Verdünnung so lange fortzusetzen, bis ich Tröpfchen mit nur einer einzigen Zelle vorfinde.
2. Ich brauche die Zellen nicht zuerst zu einem Sproßverband auswachsen zu lassen, ehe ich eine Impfung vornehme.
3. Ich kann unter Umständen mit einer Abimpfung gleich mehrere absolute Reinkulturen gewinnen.
4. Ich habe durch die Wahl eines festen Nährbodens nochmals eine Kontrolle, ob tatsächlich meine Kultur aus einer einzigen Zelle entstanden ist.

Dabei läßt sich der ganze Arbeitsgang in einer bedeutend kürzeren Zeit abwickeln, als mit der bisherigen Lindnerschen Tröpfchenmethode. Ich arbeite mit dieser veränderten Lindnerschen Tröpfchenmethode bereits 6 Jahre und habe sehr gute Erfahrungen mit ihr gemacht, insbesondere bei der Gewinnung von Reinkulturen von Hefen und Schimmelpilzen. Auch die Gewinnung von Bakterienkulturen läßt sich ermöglichen, wenn wir es lediglich auf eine Verringerung der Zellenzahl des Ausgangsmaterials abgesehen haben. Die Infektionsgefahr ist keineswegs größer als bei den bisherigen Verfahren und läßt sich durch Verwendung eines Hansenschen Impfkastens vollständig ausschalten.

Zusammenfassung.

Es wird eine Modifikation der Lindnerschen Tröpfchenmethode beschrieben, welche die Gewinnung absoluter Reinkulturen von Hefen, Schimmelpilzen usw. in einer viel kürzeren Zeit und in einfacherer Weise gestattet als die bisherige Lindnersche Tröpfchenmethode.

Literatur.

Brefeld, O., Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze. Heft 1—4. Leipzig 1872—1881. — Ders., Methoden zur Untersuchung der Pilze. (Ber. d. med.-phys. Ges. zu Würzburg. 1874.) — Fitz, A., Über die alkoholische Gärung durch Mucor Mucedo und M. racemosus. (Ber. d. dtsch. chem. Ges. Bd. 5. 1873. S. 48.) — Hansen, E. Chr., Sur le Saccch. apiculatus et sa circulation dans la nature. (Compt. rend. d. Meddel. fza. Carlsberg. Laboratoriet. T. 1. 3. H. 1881.) — Jörgenson, A., Mikroorganismen der Gärungsindustrie. 3. Aufl. Berlin 1892. S. 25, 26. — Klöcker, A., Die Gärungsorganismen in der Theorie und Praxis der Alkoholgärungsgewerbe. 3. Aufl. Wien 1924. S. 2, 85—88. — Liston, J., On the lactic fermentation and ist bearing on patology. (Transact. of the Patological Society of London. Vol. 29. 1878.) — Lafar, F., Handbuch der technischen Mykologie. Jena 1914. Bd. 4. S. 11. — Lindner, P., Mikroskopische und biologische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben. 6. Aufl. Berlin 1930. S. 179. — Nägeli, Theorie der Gärung. 1879. — Omeljansky, A. B., Die Grundlagen der Mikrobiologie. Leningrad 1924. 5. Aufl. S. 11. (Russisch.)

Nachdruck verboten

Über Eiweißerzeugung aus Kohlehydraten und anorganischen Stickstoffsalzen durch Gärung in Silos.

[Aus dem Institut für Chemische Technik und aus dem Botanisch-Mikrobiologischen Institut der Technischen Hochschule Karlsruhe.]

Von **F. A. Henglein, W. Schwartz** und **Luzie Salm.**

Mit 1 Abbildung im Text.

I. Einleitung.

Eine der dringendsten Aufgaben der deutschen Landwirtschaft ist heute die Erzeugung von eiweißreichen Futtermitteln im eigenen Lande. Der Hauptmangel bei der Tierernährung liegt darin, daß die Eiweißvorräte besonders für die trockenen Sommermonate, für den Winter und für die ersten Frühlingsmonate nicht ausreichen. Dieser Mangel mußte jeweils durch Einfuhr von Ölkuchen und sonstigen eiweißreichen Futtermitteln aus dem Ausland ausgeglichen werden. Auch die Menge an Fischmehl und sonstigem Tiermehl, die in Deutschland erzeugt wird, reicht nicht aus. Im Jahre 1932 wurden mehr als 750 000 t Futtereiweiß eingeführt.

Da eine wesentliche Einschränkung in der Verabreichung von Futtereiweiß kaum möglich ist, hat man schon seit Jahren Wege gesucht, um das fehlende Futtereiweiß zu ergänzen oder zu ersetzen. Im Weltkriege konnten in dieser Hinsicht wichtige Erfahrungen gesammelt werden.

Wir haben in der vorliegenden Arbeit den Versuch unternommen, den Eiweißgehalt des Silofutters zu erhöhen, indem wir den zerkleinerten Pflanzenteilen vor Beginn der Silierung eine anorganische Stickstoffverbindung (Diammoniumphosphat) zusetzten, um auf diese Weise die Bedingungen für eine Eiweißsynthese durch die im Silofutter lebenden Mikroorganismen (besonders Milchsäurebakterien und Hefen) zu verbessern. Die Silierung erfolgte unter Verwendung von Penthesta.

Ähnliche Überlegungen und Versuche sind in landwirtschaftlichen Kreisen bereits angestellt worden; ausführliche Veröffentlichungen über den Verlauf derartiger Versuche sind uns jedoch nicht bekannt geworden, so daß uns eine auf umfangreiche Experimente gestützte Beantwortung der Frage, ob eine Erhöhung des Eiweißgehaltes von Silofutter während der Silage, d. h. also unter Luftabschluß, durch Zugabe anorganischer Stickstoffsalze möglich ist, wichtig erschien.

Eine Erhöhung des Eiweißgehaltes könnte zustande kommen durch Verminderung der mit der Silage verbundenen Verluste an Pflanzeneiweiß, durch Vermehrung des Gehaltes an Pilzen und Bakterien im Silofutter oder schließlich durch Erhöhung des Eiweißgehaltes der einzelnen Pilz- oder Bakterienzelle.

II. Versuchsanordnung.

Es wurden zwei Großversuche (1 und 2) mit je 3—8 Reihen (I, II usw.) angesetzt, der erste mit jungem Gras, der zweite mit Runkelrübenblättern. Das Gras war mit der Häckselmaschine auf 30 mm Länge, die Runkelrübenblätter waren auf 15 mm Länge geschnitten.

Das zu silierende Material wurde in Einmachgläser von 2 l Inhalt eingestampft und erhielt dabei in kleinen Anteilen Silierflüssigkeit, deren Zu-

sammensetzung aus nachstehenden Tabellen ersichtlich ist. Bei den Versuchen mit Runkelrübenblättern stand der Saft in den Gläsern so hoch, daß das Futter fast ganz bedeckt war. Die Gläser hatten einen geschliffenen Rand, ebenso die dazu passenden Deckel. Zwischen Glas und Deckel, der mit Hilfe eines Metallbügels an das Glas angedrückt war, lagen 2 Gummiringe. Außerdem war der Verschluß der Gläser mit Paraffin abgedichtet. Die Gläser standen dunkel in Schränken bei Zimmertemperatur.

Die Versuchsdauer betrug 6 Monate. Diese Zeit entspricht der durchschnittlichen Zeit der Aufbewahrung des Futters im Silo.

1. Großversuch. Beginn am 11. 5. 1936.

Das junge Gras stammte vom Katharinenthaler Hof bei Pforzheim. Die Einmachgläser wurden mit je 1100 g Gras und 60 ccm Silierflüssigkeit (Tab. 1 a) gefüllt.

Tabelle 1 a.

Reihe	Zusätze zu je 1100 g Frischmasse		
	Penthestalösung[1]) ccm	Diammonphosphat %	Rübenzucker %
I	60	—	—
II	60	2	—
III	60	4	—
IV	60	8	—
V	60	12	—
VI	60	—	5
VII	60	4	5
VIII	60	12	5

[1]) 26,1 g Phosphorsäure + 48,7 g Salzsäure in 1 l Wasser gelöst.

2. Großversuch. Beginn am 16. 10. 1936.

Runkelrübenblätter vom Katharinenthaler Hof bei Pforzheim.

Inhalt der Gläser: je 1700 g Blätter und 60 ccm Silierflüssigkeit (Tab. 2 a).

Tabelle 2 a.

Säuremenge in der Lösung	Reihe	a) 31,3 g Phosphorsäure u. 58,4 g Salzsäure in 1 l wässeriger Lösung %	b) 39,2 g Phosphorsäure u. 73,0 g Salzsäure in 1 l wässeriger Lösung %	c) 52,5 g Phosphorsäure u. 97,4 g Salzsäure in 1 l wässeriger Lösung %
Diammon-Phosphat-zusätze:	I	0,0	0,0	0,0
	II	0,5	0,5	0,5
	III	1,0	1,0	1,0
	IV	3,0	3,0	3,0
	V	6,0	6,0	6,0
	VI	12,0	12,0	12,0

III. Versuchsergebnisse.

a) Sinnenprüfung.

Die erste Beurteilung eines Silofutters kann nach der äußeren Beschaffenheit durch Prüfung auf Geruch, Geschmack, Farbe, Struktur und Schichtung vorgenommen werden (6).

Das Futter soll einen angenehm-aromatischen, brotartigen Geruch besitzen. Jedoch ist der Geruch insofern nicht ausschlaggebend, als das Futter

sehr gut siliert sein kann, auch wenn man kaum einen Geruch wahrnimmt. Ein stechend saurer Geruch ist auf die Anwesenheit von Essigsäure zurückzuführen, das Futter wird dann nicht gern von den Tieren genommen. Schimmlig riechendes Futter ist ausgesprochen schlecht und weitgehend zersetzt. Schimmelpilze entwickeln sich bei ungenügendem Luftabschluß. Geruch nach Buttersäure ist ein Zeichen für verdorbenes Futter mit vorausgegangener starker anaerober Zersetzung. Qualitativ läßt sich Buttersäure in einfacher Weise feststellen, indem man das Futter zwischen den Handballen zerreibt; der Geruch nach Buttersäure haftet auch nach dem Abwaschen noch lange an der Hand, um so länger, je stärker der Gehalt an Buttersäure war.

Die Farbe des Silofutters soll olivgrün bis bräunlichgrün sein. Die Verfärbung nach hellbraun entsteht, wenn die Säurekonzentration hoch oder die Säure nicht gleichmäßig verteilt ist.

Die Bildung von Schichten wird dadurch bedingt, daß das Futter nicht gleichmäßig mit Säure benetzt wurde. Dann entstehen Nester von schlechtem Futter, die insbesondere bei Anwesenheit von Buttersäurebakterien das ganze übrige Futter wertlos machen.

Die Struktur soll gut erhalten sein. Weiches und breiiges Futter ist zersetzt. Je härter sich das Futter anfühlt, desto besser ist die ursprüngliche Struktur erhalten und desto wertvoller ist es.

1. Großversuch.

Die Säuerung des Grases war zu gering. Aus Tab. 1 (Spalte Nr. 1—3) geht hervor, daß bei den Reihen I—V in fast allen Gefäßen das Futter zersetzt war. Der Geruch war fast überall käsig, sehr oft auch stechend sauer, mit Ausnahme der Reihen VI, VII und VIII mit Zuckerzusatz. Die Struktur war meist gut erhalten, nur bei der Reihe V mit hohem Diammon-Phosphatzusatz (Spalte Nr. 3 u. 10) fühlte sich das silierte Gras weich an.

Auch der hohe Diammonphosphat-Zusatz der Reihe VIII, der dem der Reihe V gleich ist, konnte der Silage mit dem Zuckerzusatz nicht so viel schaden. Die Struktur war bei den letzten drei Reihen gut erhalten. Die Farbe war bei allen Reihen immer gleichmäßig gelbgrün. Das Futter der Reihe VI (mit Zuckerzusatz) hatte einen viel besseren Geruch als das der Reihe I (nur Penthestazusatz).

2. Großversuch.

Die Runkelrübenblätter waren bei allen drei Reihen (a, b und c) gut siliert, was aus Tab. 2 (Spalte Nr. 1—3) leicht zu erkennen ist. Der Geruch war in allen Gefäßen schwächer als beim ersten Großversuch, die Farbe überall gleichmäßig gelbgrün. Auch die Struktur war mit Ausnahme der Reihen c gut erhalten; bei diesen fühlte sich das Futter mitunter weich an, was auf den besonders hohen Säuregehalt bei c (vgl. Tab. 2 a) zurückzuführen ist.

b) Chemische Untersuchungen.

Die chemischen Untersuchungen wurden am frischen Ausgangsmaterial und am silierten Futter ausgeführt, und erstreckten sich auf folgende Stickstoff-Bestimmungen:

Gesamt-Stickstoff,
Reineiweiß-Stickstoff,
unverdaulicher Eiweiß-Stickstoff,
Ammoniak-Stickstoff.

Tabelle 1. 1. Großversuch,

Sinnenprüfung.

Spaltnummer:		1	2	3
Reihe	Versuchsdauer in Tagen	Geruch	Farbe	Struktur
Frisches Material:				
I	36	säuerlich und käsig, die 3. Probe roch nach Buttersäure	gelbgrün	gut erhalten
I	78			
I	190			
II	36	etwas stechend sauer und käsig	gelbgrün	gut erhalten
II	78			
II	190			
III	36	die ersten beiden Proben stechend sauer und käsig, die letzte Probe schwach sauer und aromatisch	gelbgrün	gut erhalten
III	78			
III	190			
IV	36	stechend sauer, käsig, zersetzt	gelbgrün	gut erhalten
IV	78			
IV	190			
V	36	schwach sauer, käsig, dumpf	gelbgrün	weniger gut erhalten, weich
V	78			
V	190			
VI	36	säuerlich, frisch aromatisch	gelbgrün	gut erhalten
VI	78			
VI	190			
VII	36	säuerlich, schwach stechend, schwach käsig, bisweilen aromatisch	gelbgrün	gut erhalten
VII	78			
VII	190			
VIII	36	säuerlich, frisch aromatisch	gelbgrün	gut erhalten
VIII	78			
VIII	190			

Das eigentliche Eiweiß, das man als Reineiweiß bezeichnet, wird bei der Analyse durch Kupferhydroxyd gefällt. Das unverdauliche Eiweiß wird bei schwach saurer Reaktion durch Pepsin nicht in Lösung gebracht.

In den Tabellen wird der Stickstoffgehalt angegeben in Prozent, bezogen auf die Trockensubstanz des silierten Futters.

Außer dem Wassergehalt wurde noch die Wasserstoffionenkonzentration bestimmt. Die chemischen und biologischen Veränderungen des Futters werden erheblich von der Wasserstoffionenkonzentration beeinflußt, die sich bald nach der Silierung einstellt. In der Messung der p_H-Werte hat man eine einfache Methode, ein Silofutter rasch und ziemlich sicher zu beurteilen. Es wurde ferner der Gehalt an Milchsäure, Essigsäure und Buttersäure ermittelt.

Angaben über die Analysenmethoden sind am Schluß dieses Abschnittes zusammengestellt.

1. Großversuch.

Das junge Gras hatte einen Wassergehalt von durchschnittlich 83% im silierten Material (Tab. 1, Sp. Nr. 5).

Die p_H-Werte (Sp. Nr. 4) steigen mit der Höhe des Diammonphosphat-Zusatzes (Sp. Nr. 10). Die zugesetzte Säuremenge war bei allen Reihen gleich. Die Reihe VIII mit Zuckerzusatz zeigte etwas günstigere p_H-Werte als die

begonnen am 11. 5. 1936.

Chemische Untersuchungen. Stickstoffgehalt.

4	5	6	7	8	9	10
p_H im Preßsaft	Wassergehalt	Gesamt-N	Reineiweiß-N	Unverdaulicher Eiweiß-N	NH_3-N	Zusatz an Diammonphosphat-N
		N-Gehalt in %, bezogen auf Trockensubstanz				
5,86	80,4	3,11	2,89	0,72	–	—
4,32	82,8	3,11	1,81	0,54	0,05	0,0
4,35	83,7	3,06	1,60	0,58	0,09	0,0
4,05	83,6	3,07	1,78	0,57	0,32	0,0
4,27	83,4	3,06	1,71	0,64	0,36	0,133
4,26	83,7	3,09	1,58	0,50	0,49	0,133
4,42	84,0	3,18	1,60	0,53	0,21	0,133
4,92	84,5	3,24	1,73	0,65	0,53	0,265
3,77	82,6	3,26	1,68	0,52	0,56	0,265
4,11	83,5	3,21	1,63	0,52	0,56	0,265
5,00	82,9	3,56	1,61	0,53	0,68	0,525
5,13	83,9	3,50	1,46	0,56	0,85	0,525
5,00	85,2	3,49	1,42	0,50	0,88	0,525
5,23	84,2	3,86	1,72	0,69	0,83	0,80
5,69	86,5	3,85	1,22	0,50	1,01	0,80
5,59	84,5	3,77	1,03	0,48	1,25	0,80
4,30	83,0	3,02	1,92	0,60	0,25	0,0
4,26	82,5	3,05	1,64	0,53	0,30	0,0
4,19	83,0	3,09	1,60	0,58	0,25	0,0
5,35	84,0	3,31	1,58	0,66	0,50	0,265
4,64	81,8	3,26	1,25	0,56	0,57	0,265
4,50	83,4	3,19	1,42	0,58	0,50	0,265
4,64	84,2	3,78	1,72	0,73	0,97	0,80
4,24	81,0	3,90	1,14	0,52	0,93	0,80
4,96	84,3	3,75	1,07	0,49	1,03	0,80

entsprechende Reihe V ohne Zucker, obgleich der Gehalt an organischen Säuren (Sp. Nr. 11, 12, 13) niedriger ist.

Der Gesamtstickstoff-Gehalt (Sp. Nr. 6) der einzelnen Proben weist entsprechend dem luftdichten Verschluß der Versuchsgefäße keine Besonderheiten auf.

Der Gehalt an Reineiweiß (Sp. Nr. 7) ändert sich ziemlich regelmäßig. Mit zunehmendem Diammonphosphat-Zusatz (Sp. Nr. 10) und steigendem p_H-Wert (Sp. Nr. 4) nimmt der Gehalt an Reineiweiß ab, auch der Zusatz von Zucker vermag daran nichts zu ändern. Im günstigsten Fall, d. h. wenn die Versuchsgefäße kein oder nur wenig Diammonphosphat bei der Silierung erhalten hatten, wurden bis zu 45% des ursprünglichen Eiweißgehaltes abgebaut. Die entsprechende Zahl für die am meisten zersetzten Proben war 64%. Dieser besonders starke Eiweißabbau erfolgte in Proben mit 26% Diammonphosphat-Stickstoff (bezogen auf den Gesamtstickstoff des Ausgangsmaterials).

Das unverdauliche Eiweiß (Sp. Nr. 8) hat bei allen Reihen annähernd gleichmäßig abgenommen.

Der Ammoniak-Stickstoff-Gehalt (Sp. Nr. 9) nahm bei allen Reihen zu. Die Zunahme betrug bei den Reihen mit Zuckerzusatz durchschnittlich 8%

Tabelle 1 (Fortsetzung). 1. Großversuch,

		Säuren (freie + gebundene)			Mikroskopische Präparate	Haltbarkeitsprobe
Spaltnummer:		11	12	13	14	15
Reihe	Versuchsdauer in Tagen	Milchsäure	Essigsäure	Buttersäure	Sporenfärbung nach Möller (Kontrastfärbung mit Methylenblau)	Befund nach 8—10 Tagen
Fr. Material:						
I	36	0,80	0,44	0,14	Kokken, Kurzstäbchen, wenig Sporen	Flüssigkeit trübe, Geruch faulig; Kokken, Kurzstäbchen, Schimmelpilze
I	78	0,58	0,37	0,65		
I	190	0,80	0,35	0,59		
II	36	0,70	0,27	0,51	Kokken, Kurzstäbchen, Sporen	Flüssigkeit trübe, Geruch faulig; Kokken, Kurzstäbchen
II	78	0,87	0,58	0,55		
II	190	0,65	0,64	0,68		
III	36	0,86	0,31	0,36	Kurzstäbchen, Kokken, Sporen	Flüssigkeit wenig trübe, Geruch faulig, Kokken u. wenig Hefen
III	78	0,80	0,38	0,32		
III	190	0,49	0,39	0,56		
IV	36	0,94	0,49	0,44	Kokken, Kurzstäbchen, Sporen	Flüssigkeit trübe, Geruch faulig, Kokken und Kurzstäbchen
IV	78	0,58	0,31	1,05		
IV	190	1,16	0,38	1,54		
V	36	1,00	0,48	0,35	Kokken, Kurzstäbchen, Sporen, vereinzelt Hefen	Flüssigkeit trübe, Geruch faulig; Kokken, Kurzstäbchen, Sporen
V	78	1,09	0,50	1,17		
V	190	0,58	0,58	1,46		
VI	36	0,73	0,29	0,23	Kokken, Kurzstäbchen, Sporen	Flüssigkeit schwach trübe, Geruch schwach faulig; Kurzstäbchen, Kokken
VI	78	0,87	0,37	0,47		
VI	190	0,55	0,28	0,76		
VII	36	0,98	0,41	0,54	Kokken, Kurzstäbchen, wenig Hefen	Flüssigkeit trübe, Geruch faulig; Kokken, Kurzstäbchen, wenig Hefen
VII	78	0,81	0,40	0,78		
VII	190	0,59	0,31	0,92		
VIII	36	0,70	0,42	0,16	Kurzstäbchen, Kokken, wenig Hefen, wenig Sporen	Flüssigkeit trübe, Geruch faulig; Schimmelpilze, Kurzstäbchen, Kokken
VIII	78	0,72	0,52	0,06		
VIII	190	0,97	0,46	1,04		

(bezogen auf den Gesamtstickstoff-Gehalt des Ausgangsmaterials), während sie bei den Reihen ohne Zuckerzusatz durchschnittlich 10%, bei den Proben der Reihe V mit hohem Diammonphosphat-Zusatz 15% ausmachte. Der Gehalt an NH_3-Stickstoff war bei jeder Reihe höher als der Zusatz an Diammonphosphat-Stickstoff.

Eine Neubildung von Eiweiß aus dem zugesetzten Diammonphosphat hat nicht stattgefunden, ebensowenig konnte der Abbau der im frischen Material enthaltenen Eiweißkörper durch die Diammonphosphat-Zusätze vermindert werden.

Die Milchsäurewerte (Sp. Nr. 11) zeigen größere Unterschiede, jedoch ohne erkennbare klare Beziehung zu den Versuchsbedingungen.

Die Essigsäurewerte (Sp. Nr. 12) liegen bei Reihe II, V und VIII etwas höher als bei den übrigen Reihen.

Die Buttersäurewerte (Sp. Nr. 13) steigen mit zunehmendem Diammonphosphat-Gehalt. Die Werte sind auch bei den Reihen ohne Diammonphosphat-Zusatz so hoch, daß das Futter zur Verfütterung unbrauchbar gewesen wäre.

begonnen am 11. 5. 1936.

Keimarten auf den Platten		Keimzahlen		Titerbestimmungen von Bakterien	
16	17	18	19	20	21
Aerobe Kultur auf		In Mill. je Gramm Futter Aerobe Kultur auf		Indolbildner	Buttersäurebakterien
Nähr-Agar	Würzegelatine	Nähr-Agar	Würzegelatine		
Kokken, Kurzstäbchen,	Kurzstäbchen, Kokken, Penicillium	13,5 0,1 1,7	59,1 5,4 1,5	25 000 10 5	1 000 1 000 1 000
Schimmelpilze, Kurzstäbchen, Kokken	Kurzstäbchen, Kokken, Schwärzepilze	7,0 0,4 1,0	40,9 12,9 1,5	25 000 5 0	1 000 1 000 50 000
Kokken, wenig Hefen, Kurzstäbchen	Kurzstäbchen, Kokken	9,9 0,24 2,1	65,7 13,6 0,9	25 000 5 500	10 1 000 1 000
Kurzstäbchen, Kokken	Kurzstäbchen, Aspergillus	27,6 0,7 0,9	98,7 8,5 1,0	25 000 500 1 000	1 000 25 000 50 000
Kurzstäbchen, Kokken, wenig Hefen	Schimmelpilze, Kurzstäbchen	14,8 0,3 1,0	28,7 13,3 1,3	1 000 1 000 10	1 000 25 000 50 000
Kurzstäbchen, Kokken, Schimmelpilze	Schimmelpilze, Kurzstäbchen	13,7 0,1 1,3	13,2 11,5 0,5	10 5 0	10 10 1 000
Kurzstäbchen, wenig Hefen, Kokken	Penicillium, Kurzstäbchen, Hefen	5,2 0,1 0,5	18,1 11,2 1,1	1 000 10 5	1 000 1 000 1 000
Kurzstäbchen, Schimmelpilze, Kokken	Dematium, Hefen, Kurzstäbchen	21,3 0,1 1,7	107,3 12,1 0,9	1 000 10 5	10 1 000 1 000

2. Großversuch[1]).

Die silierten Runkelrübenblätter hatten einen Wassergehalt (Tab. 2, Sp. Nr. 5) von durchschnittlich 91%.

Die p_H-Werte (Sp. Nr. 4) liegen bei diesem Versuch niedrig, da bei Versuchsbeginn den Blättern viel Säure zugesetzt worden war. Im Durchschnitt betragen die p_H-Werte für Reihe a: 3,43, für Reihe b: 3,34 und für Reihe c: 3,20.

Der Gesamtstickstoff-Gehalt (Sp. Nr. 6) hat sich während des Versuchs nicht wesentlich geändert.

Der Gehalt an Reineiweiß (Sp. Nr. 7) hat bei der Reihe a abgenommen, und zwar stärker mit steigendem Diammonphosphat-Zusatz (Sp. Nr. 10). Die stärkste Abnahme mit 42% zeigt die Probe VI a mit 26% Diammonphosphat-Zusatz. Etwas besser sind die Reineiweißwerte der Reihe b. Der Eiweißabbau nahm auch hier mit steigendem Diammonphosphat-Zusatz zu, aber nicht so stark wie bei Reihe a. In Reihe c hat das Diammonphosphat keinen wesentlichen Einfluß auf die Stärke des Eiweißabbaues ausgeübt;

[1]) Die Analysenwerte dieses Versuchs sind zur Platzersparnis nur auszugsweise in Tab. 2 beigefügt.

Tabelle 2. 2. Großversuch,

Sinnenprüfung.

Spaltnummer:		1	2	3
Reihe	Versuchsdauer in Tagen	Geruch	Farbe	Struktur
Frisches Material:				
I a	89	schwach sauer, aromatisch und frisch	gelbgrün	1. u. 2. Probe: gut erhalten; 3. Probe: weich, zerfranst
I b	137			
I c	171			
II a	89	wie bei I a/c	gelbgrün	wie bei I a/c
II b	137			
II c	171			
III a	89	wie bei I a/c	gelbgrün	gut erhalten
III b	137			
III c	171			
IV a	89	wie bei I a/c	gelbgrün	wie bei I a/c
IV b	137			
IV c	171			
V a	89	wie bei I a/c	gelbgrün	gut erhalten
V b	137			
V c	171			
VI a	89	säuerlich, wenig stechend, ganz schwach aromatisch	gelbgrün	gut erhalten
VI b	137			
VI c	171			

		Säuren (freie + gebundene)			Mikroskopische Präparate	Haltbarkeitsprobe
Spaltnummer:		11	12	13	14	15
Reihe	Versuchsdauer in Tagen	Milchsäure	Essigsäure	Buttersäure	Sporenfärbung nach Möller (Kontrastfärbung mit Methylenblau)	Befund nach 8—10 Tagen
Fr. Material:						
I a	89	0,37	0,37	0,0	Kurzstäbchen, Hefen, Langstäbchen, Kokken	Flüssigkeit trübe, Geruch schwach faulig; Schimmelpilze, Kurzstäbchen
I b	137	0,32	0,33	0,0		
I c	171	0,41	0,34	0,0		
II a	89	0,54	0,40	0,0	Kurzstäbchen, Hefen Langstäbchen, Kokken	Flüssigkeit schwach trübe, Geruch schwach faulig; Penicillium, Hefen
II b	137	0,54	0,38	0,0		
II c	171	0,45	0,23	0,0		
III a	89	0,43	0,29	0,0	Kokken, Langstäbchen, Hefen, Kurzstäbchen	Flüssigkeit schwach trübe, Geruch schwach faulig; Kurzstäbchen, Aspergillus
III b	137	0,48	0,34	0,0		
III c	171	0,61	0,34	0,0		
IV a	89	0,51	0,37	0,0	Kokken, Langstäbchen, Kurzstäbchen, Hefen	Flüssigkeit klar, Geruch schwach faulig; Kurzstäbchen, Hefen
IV b	137	0,58	0,36	0,0		
IV c	171	0,84	0,48	0,0		
V a	89	0,48	0,44	0,0	Kokken, Hefen, Kurzstäbchen, Langstäbchen	Flüssigkeit schw.trübe, Geruch schw. faulig; Kurzstäbchen, Hefen, Schimmelpilze
V b	137	0,61	0,34	0,0		
V c	171	0,39	0,29	0,0		
VI a	89	0,50	0,44	0,0	Kokken, Langstäbchen, Kurzstäbchen, Hefen	Flüssigkeit klar, Geruch schw. faulig; Kurzstäbchen, Schimmelpilze, wenig Hefen
VI b	137	0,30	0,50	0,0		
VI c	171	0,46	0,37	0,0		

begonnen am 16. 10. 1936.

Chemische Untersuchungen. Stickstoffgehalt.

4	5	6	7	8	9	10
p_H im Preßsaft	Wassergehalt	Gesamt-N	Reineiweiß-N	Unverdaulicher Eiweiß-N	NH_3-N	Zusatz an Diammonphosphat-N
		N-Gehalt in %, bezogen auf Trockensubstanz				
—	85,0	3,49	3,02	0,80	—	—
3,41	90,5	3,46	2,22	0,72	0,14	0,0
3,31	90,6	3,46	2,32	0,80	0,14	0,0
3,26	91,7	3,44	2,23	0,75	0,13	0,0
3,44	90,3	3,48	2,34	0,74	0,18	0,037
3,25	90,5	3,52	2,28	0,82	0,16	0,037
3,12	91,2	3,52	2,17	0,79	0,17	0,037
3,39	90,4	3,49	2,05	0,77	0,18	0,075
3,25	90,7	3,55	2,26	0,67	0,17	0,075
3,12	91,5	3,54	2,30	0,76	0,18	0,075
3,50	90,2	3,62	1,94	0,64	0,35	0,225
3,36	90,6	3,68	2,19	0,65	0,30	0,225
3,08	92,2	3,69	2,33	0,61	0,31	0,225
3,42	89,5	3,88	1,95	0,72	0,50	0,45
3,38	90,1	3,85	2,13	0,69	0,51	0,45
3,42	91,4	3,91	2,41	0,67	0,54	0,45
3,42	89,5	4,37	1,76	0,74	0,93	0,90
3,49	90,3	4,24	1,85	0,71	1,00	0,90
3,14	91,0	4,34	2,08	0,64	1,11	0,90

Keimarten auf den Platten — Keimzahlen — Titerbestimmungen von Bakterien

16	17	18	19	20	21
Aerobe Kultur auf		In Mill. je Gramm Futter Aerobe Kultur auf		Indolbildner	Buttersäurebakterien
Nähr-Agar	Würzegelatine	Nähr-Agar	Würzegelatine		
Kokken, Kurzstäbchen, Hefen	Hefen, Kokken	0,75 0,35 0,07	1,79 0,93 0,003	0 0 0	10 0 0
Kurzstäbchen, Hefen, Schimmelpilze	Hefen, Kurzstäbchen	0,54 0,05 0,20	0,05 0,20 0,03	0 0 0	0 0 0
Aspergillus, Hefen, Kurzstäbchen	Aspergillus, Hefen	2,48 0,11 0,02	1,93 0,15 0,02	0 0 0	10 0 0
Kokken, Hefen, Kurzstäbchen	Hefen, Kurzstäbchen	0,67 0,11 0,001	1,26 0,72 0,01	0 0 0	0 0 0
Kokken, Hefen, Dematium	Hefen, Kurzstäbchen, Dematium	0,97 0,33 0,17	3,43 0,06 0,40	0 0 0	0 0 0
Hefen, Kokken, Sarcina	Hefen, Kurzstäbchen, Dematium	0,88 0,11 0,37	1,98 0,33 0,17	0 0 0	10 0 0

im allgemeinen war der Abbau bei Reihe c weniger stark als bei den Reihen a und b.

Die Werte für das unverdauliche Eiweiß (Sp. Nr. 8) haben sich bei keiner Reihe bemerkenswert geändert.

Der Gehalt an Ammoniakstickstoff (Sp. Nr. 9) ist bei Reihe II—VI entsprechend der Höhe des Diammonphosphat-Zusatzes gestiegen. Er lag zwischen 2 und 4% über dem zugesetzten Diammonphosphat-Stickstoff. Die Höhe der Säuremenge bei a—c war ohne Einfluß auf die Ammoniakbildung.

Wie bei Großversuch 1 wurde also weder Eiweiß synthetisiert, noch der Eiweißabbau aufgehalten.

Die Milchsäurewerte (Sp. Nr. 11) liegen verhältnismäßig niedrig. Die Bildung von Milchsäure war infolge der starken Ansäuerung des Futters bei Versuchsbeginn nicht so stark.

Die Essigsäurewerte (Sp. Nr. 12) entsprechen etwa den Werten bei Großversuch 1.

Buttersäure ließ sich in keiner Probe nachweisen (Sp. Nr. 13).

Anhang: Angewandte Analysenmethoden.

Die Methoden zur Bestimmung des Wassergehalts, von Reineiweiß nach Barnstein und unverdaulichem Eiweiß, haben wir dem agrikulturchemischen Praktikum von G. Wiegner (7) entnommen. Der Wassergehalt wurde am feuchten und am vorgetrockneten Material ermittelt.

Den Gesamt-Stickstoff-Gehalt bestimmten wir nach der Methode von Kjeldahl (4).

Zur Ammoniakbestimmung, die am feuchten und am vorgetrockneten Material erfolgte, wurde das Futter mit Magnesiumoxyd alkalisch gemacht und das Ammoniak im Vakuum abdestilliert (6).

Die Milchsäure bestimmten wir nach I. Keseling (2) im wässerigen Silofutterauszug 1:10 (6); Essigsäure und Buttersäure nach W. Lepper (3) im Silofutterextrakt, und zwar in allen drei Fällen freie und gebundene Säure zusammen.

Die p_H-Werte wurden im Preßsaft (1. Großversuch) oder im Silofutterextrakt (2. Großversuch) nach der elektrometrischen Methode mit Hilfe der Chinhydronelektrode gemessen (5).

c) Mikrobiologische Untersuchungen.

Als notwendige Ergänzung zur chemischen Untersuchung eines Silofutters muß die biologische Untersuchung angesehen werden. Chemische und biologische Untersuchung zusammen geben erst einen Überblick über den Verlauf der Veränderungen im Silofutter. Die mikrobiellen Prozesse im Silofutter hängen von den im Futter vorhandenen Mikroorganismen und ihren Lebensbedingungen während der Silage ab. Vor allem ist der Grad der Ansäuerung bei Beginn der Silierung wichtig. Bei hohem Säuregehalt werden sich, sofern das Futter nicht gleich nach Beginn der Silierung steril wurde, vorzugsweise anaerob wachsende, ausgesprochen säuretolerante Organismen entwickeln. Bei schwacher Säuerung vermehren sich auch bestimmte, eiweißabbauende Bakterien, deren Tätigkeit durch höhere Säuregehalte ausgeschaltet wird. Erwünscht sind im Silofutter Bakterien, die Zucker zu Milchsäure vergären, und Hefen. Unerwünscht sind vor allem Buttersäurebakterien, besonders solche, die später bei der Verarbeitung der Milch in der Käserei Käsefehler verursachen können, ferner Essigsäurebakterien, eiweißabbauende Bakterien und Schimmelpilze.

Die Methoden für die biologische Untersuchung des Silofutters, deren ausführlichere Beschreibung sich am Schluß des Abschnitts findet, sind noch nicht in der Weise spezialisiert und ausgebaut, wie z. B. die Methoden der

Molkereibakteriologie. Da aus den Ergebnissen der chemischen Untersuchung hervorgeht, daß unter den gegebenen Versuchsbedingungen eine mikrobielle Eiweißsynthese nicht stattgefunden hat, beschränkten wir uns bei der mikrobiologischen Untersuchung auf einige allgemeine Methoden zur Charakterisierung des Futters. Wir untersuchten zunächst gefärbte Präparate unter dem Mikroskop, um einen ersten Anhalt über die im Futter vorhandenen Mikroorganismen zu gewinnen. Gute Hinweise auf die Qualität des Futters ergab die Haltbarkeitsprobe. Quantitative Angaben lassen sich auf Grund der Keimzahl- und Titerbestimmungen machen. Titerbestimmungen wurden von den eiweißabbauenden Indolbildnern und den Buttersäurebakterien gemacht. Für die Indolbildner diente Peptonwasser als Nährlösung, für die Buttersäurebakterien Kartoffelbrei. Den Keimgehalt an aeroben Keimen ermittelten wir auf Nähragar und Würzegelatine, wobei wir uns auf gruppenmäßige Charakterisierung der vorhandenen Organismen beschränkten.

1. Großversuch.

In den mikroskopischen Präparaten (Tab. 1, Sp. Nr. 14) fanden sich vorwiegend Kokken und Kurzstäbchen. Hefen waren in den Proben derjenigen Reihen häufiger, die bei Versuchsbeginn einen Zuckerzusatz erhalten hatten.

Die Haltbarkeitsproben (Sp. Nr. 15) enthielten sehr wenig Hefen. In den Proben der Reihen I—V waren fast keine Hefen vorhanden. Dagegen entwickelten sich bei diesem Versuch häufiger Pilze in den Haltbarkeitsproben. Besonders viele Pilze kamen in den Proben der Reihen I und VIII vor. Starke Zersetzung konnte man in den Haltbarkeitsproben der Reihen IV und V feststellen. Der Geruch der Haltbarkeitsproben war meist faulig und die Flüssigkeit durch die darin entwickelten Bakterien stark getrübt. Dies war besonders bei den Proben der Reihen IV und V der Fall. Bei den Proben der Reihen VI, VII und VIII (Zuckerzusatz) war die Flüssigkeit der Haltbarkeitsproben klarer.

Die Keimzahlen (Sp. Nr. 18 und 19) zeigen den charakteristischen Rückgang während der Silage. Die Endwerte sind überall annähernd gleich.

Die Zahl der eiweißzersetzenden Indolbildner (Sp. Nr. 20) war bei den Proben der ersten 5 Reihen höher als bei denen der letzten 3 Reihen mit Zuckerzusatz. Besonders zahlreich waren die Indolbildner in dem 36 Tage alten Silofutter. Die Buttersäurebakterien (Sp. Nr. 21) hatten sich in den Proben der ersten 5 Reihen sehr stark vermehrt, besonders in den Proben der Reihen IV und V mit hohen Diammonphosphat-Zusätzen. Die letzten 3 Reihen (mit Zuckerzusatz) zeigten in ihren Proben meist eine schwächere Vermehrung der Buttersäurebakterien als in den Proben der ersten 5 Reihen. Indolbildner und Buttersäurebakterien entwickeln sich mit fortschreitender Silage fast überall gegenläufig.

Die Silagen dieses Versuches wären wegen des zu hohen Gehaltes an Pilzen und Buttersäurebakterien nicht für Verfütterung an Tiere geeignet gewesen.

2. Großversuch.

Die mikroskopischen Präparate (Tab. 2, Sp. Nr. 14) der einzelnen Proben wiesen ziemlich gleichmäßig viel Hefen, Kurzstäbchen und Kokken auf.

Die Haltbarkeitsproben (Sp. Nr. 15) waren meist gut. Die Zersetzung der Haltbarkeitsproben war im allgemeinen nicht weit vorangeschritten, so

daß die Flüssigkeit oft ziemlich klar blieb. Kurzstäbchen und Kokken waren nicht so häufig zu finden wie in den Haltbarkeitsproben der früheren Versuche. Auch bei diesem Versuch entwickelten sich verhältnismäßig häufig Schimmelpilze in den Haltbarkeitsproben, die gegen den hohen Säuregrad der Silagen nicht so empfindlich sind. Auch die Hefen waren ziemlich zahlreich. Der manchmal esterartige Geruch der Proben deutete auf die Gattung Willia hin, deren Vorkommen im Silofutter bekannt ist.

Die Keimzahlen (Sp. Nr. 18 u. 19) lagen sehr niedrig. Die starke Ansäuerung des Futters bei der Silierung hatte von Anfang an ein stärkeres Wachstum der Mikroorganismen gehemmt. Die Flora auf den Platten (Sp. Nr. 16 u. 17) zeigte neben wenig Kurzstäbchen und Kokken viel Hefen und auch Pilze.

Indol konnte in keinem Röhrchen, das für die Titerbestimmung (Sp. Nr. 20) beimpft war, nachgewiesen werden, Buttersäurebakterien (Sp. Nr. 21) wurden in geringen Mengen nur in den Proben der Reihe a gefunden. Der Grund, weshalb sich die das Futter zersetzenden Bakterien nicht vermehren konnten, lag in den sehr niedrigen p_H-Werten der einzelnen Futterproben.

Das Futter der 3 Silagen wäre zur Verfütterung sehr gut geeignet gewesen.

Anhang: Biologische Untersuchungsmethoden.

a) Färbung der mikroskopischen Präparate. Nach guter Durchmischung des Silofutters wurden von dem im Futter enthaltenen Saft je 3 Ausstriche auf Deckgläschen gemacht und nach dem Antrocknen mit Methylalkohol fixiert. Zum Nachweis der Sporen und der vegetativen Zellen diente die Kontrastfärbung mit Karbolfuchsin und Methylenblau nach Möller (1).

b) Haltbarkeitsprobe. 5 g des zu untersuchenden Futters werden in einem 200-ccm-Erlenmeyerkolben mit 100 ccm Leitungswasser vermischt. Die Kölbchen blieben unter Watteverschluß einige Tage bei Zimmertemperatur stehen, worauf die Untersuchung der hautbildenden und der die Flüssigkeit trübenden Organismen unter dem Mikroskop erfolgte.

c) Bestimmung des Keimgehalts. Eine Aufschwemmung von 30 g Silofutter in wenig Leitungswasser wurde in einem Erlenmeyerkolben mit Wasser auf 300 ccm aufgefüllt, nach folgendem Schema (Abb. 1) verdünnt und schließlich in Petrischalen mit Nähragar und Würzegelatine untersucht.

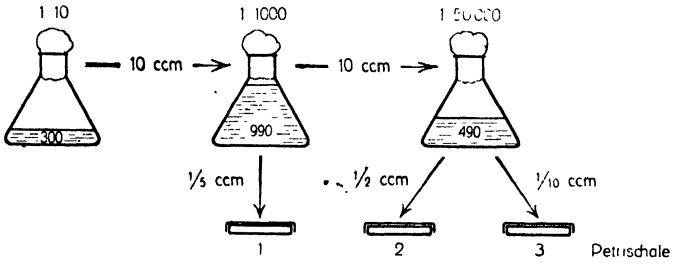


Abb. 1.

d) Herstellung der Nährböden. Der Nähragar wurde aus Nährbouillon (Präparat von Merck, Standard-I-Nährbouillon) unter Zusatz von 2% Agar-Agar hergestellt. Zur Neutralisation diente 10proz. Sodalösung (1).

Zur Herstellung von Würzegelatine diente Brauereiwürze, die mit Natronlauge neutralisiert und mit 18% Gelatine versetzt worden war (1, 6).

e) Titerbestimmung von Bakterien. Indolbildner: Je 1 ccm der nach c) hergestellten Verdünnungen wurde in Peptonwasserröhrchen mit 10 ccm Peptonwasser (1) ausgesät. Nach einigen Tagen erfolgte die Prüfung auf Indol mit p-Dimethylamidobenzaldehyd (1) als Reagens. Buttersäurebakterien: Als Substrat diente Kartoffelbrei nach Ruschmann (6) in Reagenzröhrchen. Die Anwesenheit der Buttersäurebakterien ist am Geruch der von ihnen gebildeten Buttersäure leicht zu erkennen.

Die Titerbestimmungen der Buttersäurebakterien und der Indolbildner wurden doppelt ausgeführt.

IV. Schlußzusammenfassung.

In der vorliegenden Arbeit haben wir untersucht, ob in Silofutter, dem Diammonphosphat bei der Silierung zugesetzt worden war, unter Luftabschluß mit Hilfe von Mikroorganismen, aus Diammonphosphat und den Abbauprodukten der im Futter vorhandenen Kohlehydrate bzw. des zugesetzten Zuckers Eiweiß erzeugt wird.

In zwei Großversuchen wurden verschiedene Mengen von Diammonphosphat und von Säure (Penthesta) den Proben der einzelnen Versuchsreihen zugesetzt (Tab. 1 a u. 2 a). Im folgenden gelten die vergleichenden Angaben über die Ergebnisse für 5—6 Monate altes Silofutter.

Bei einem p_H-Wert von 3,1—3,5 im Silofutter (2. Großversuch, Runkelrübenblätter, Reihe I—VI) hat der Zusatz an Diammonphosphat-Stickstoff (Tab. 2, Sp. Nr. 10) bis zu 12%, bezogen auf den Gesamtstickstoff-Gehalt des Ausgangsmaterials, keinen bemerkenswerten Einfluß auf den Eiweißabbau (Sp. Nr. 7) gehabt.

Bei einem Zusatz von 25% Diammonphosphat-Stickstoff war das Eiweiß stärker abgebaut, obwohl die p_H-Werte unter 3,5 blieben. Die Ammoniak-Stickstoff-Werte (Sp. Nr. 9) sind niedrig, sie liegen nur wenig über den Werten für den Zusatz von Diammonphosphat-Stickstoff (Sp. Nr. 10). Nach dem biologischen Befund war das Silofutter gut (Sp. Nr. 14—21), Hefen waren im Silofutter ziemlich häufig, Buttersäurebakterien (Sp. Nr. 21) fehlten.

Bei einem p_H-Wert von 3,5—4,5 (1. Großversuch, junges Gras, Reihen I, II, III u. VI) im Silofutter kann man nach den Reineiweißwerten (Sp. Nr. 7, Tab. 1) keinen großen Unterschied im Eiweißabbau bei verschiedenen Diammonphosphat-Zusätzen (Sp. Nr. 10) feststellen. Das im Ausgangsmaterial vorhandene Reineiweiß wurde in allen Proben teilweise abgebaut. Die Zunahme an Ammoniakstickstoff (Sp. Nr. 9) ist durchschnittlich 8%, bezogen auf den Gesamtstickstoff-Gehalt des Ausgangsmaterials. Buttersäurebakterien kommen häufiger vor (Sp. Nr. 21), ebenso die eiweißabbauenden Indolbildner (Sp. Nr. 20).

Bei einem p_H-Wert von 4,5—5,7 (1. Großversuch, Reihen IV, V, VII u. VIII) zeigen die Reineiweißwerte (Sp. Nr. 7) keine starke Abhängigkeit vom p_H-Wert (Sp. Nr. 4). In den Proben der Reihen IV und VII war das Eiweiß fast gleich stark abgebaut, obwohl die Proben der Reihe VII mit Zuckerzusatz bei der Silierung günstigere p_H-Werte aufwiesen und einen niedrigeren Diammonphosphat-Zusatz hatten. Reihe V und VIII zeigen gleich starken Eiweißabbau. Der Diammonphosphat-Zusatz zu den Proben war gleich, die p_H-Werte waren jedoch bei Reihe VIII niedriger, was wohl auf den Zuckerzusatz bei dieser Reihe zurückzuführen ist. Die Ammoniak-Stickstoff-Werte (Sp. Nr. 9) sind bei den Proben der Reihen IV, V, VII und VIII um 10% höher als der Diammonphosphat-Zusatz, bezogen auf den Gesamtstickstoff-Gehalt des Ausgangsmaterials. Der Geruch der Proben (Sp. Nr. 1) war nicht mehr frisch, Indolbildner (Sp. Nr. 20) und Buttersäurebakterien (Sp. Nr. 21) findet man häufig. Hefen (Sp. Nr. 14) kamen nur noch selten vor. Die Kurzstäbchen und Kokken (Sp. Nr. 15—17) waren zahlreich. Die Keimzahlen (Sp. Nr. 18—19) nehmen mit höherem Diammonphosphat-Zusatz zu. Bei sämtlichen Reihen hat sich übereinstimmend gezeigt, daß unter den gegebenen Versuchsbedingungen in einem p_H-Bereich

von 3,1—5,7 weder der natürliche Abbau der im Futter enthaltenen Eiweißkörper während der Silage vermindert wird, noch eine Eiweißsynthese aus Kohlehydraten und Diammonphosphat stattfindet.

Literaturverzeichnis.

1. Janke, A., und Zikes, H., Arbeitsmethoden der Mikrobiologie. — 2. Keseling, J., Landw. Jahrb. Bd. 79. 1934. S. 783. — 3. Leppor, W., Landw. Versuchsstat. Bd. 117. 1933. — 4. Lunge und Berl, Chem.-techn. Untersuchungsmethoden (8. Aufl.). Bd. 3. S. 601. — 5. Mislowitzer, E., Die Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration in Flüssigkeiten. 1928. — 6. Ruschmann, G., in Abderhalden, E., Handb. d. biol. Arbeitsmethoden, XII. Abt., Teil 2, Heft 4. 1934. — 7. Wiegner, G., Anleitung zum quantitativen agrikulturchemischen Praktikum.

Nachdruck verboten.

Über das Eisenbedürfnis eines zellulosezerstörenden Pilzes und seinen Zusammenhang mit dem adsorptionschemischen Verhalten des Ferroions.

[Aus dem Institut für Botanik, Warenkunde, techn. Mikroskopie und Mykologie an der Deutschen Technischen Hochschule in Brünn, Veröffentlichung Nr. 116.]

Von **Rudolf Bojanovsky.**

Mit 6 Abbildungen im Text.

In meiner Arbeit „Über eisenbedürftige zellulosezerstörende Bakterien" (1) berichtete ich über das ausgesprochene Eisenbedürfnis eines Stammes von aeroben zellulosezerstörenden Bakterien, die aus eisenreicher, roter Erde aus Krinsdorf bei Schatzlar (Nordostböhmen) gewonnen worden waren. Aus der gleichen Erde konnte ich auch einen zellulosezerstörenden Pilz absondern, der der Gattung Monosporium nahesteht. Die Reinkultur gelang durch Anwendung des phyletischen Anionenphänomens (2) (CNS'-Ion), worüber an anderer Stelle berichtet wird (3). Es war naheliegend, anzunehmen, daß auch dieser Pilz ein merkliches Eisenbedürfnis zeigen wird. Deshalb stellte ich mit ihm ähnliche Versuche an, wie sie in der genannten Arbeit für den Bakterienstamm geschildert sind.

Es wurde also das Wachstum auf Nährlösungen mit verschiedenem Eisengehalte bestimmt. Die erwähnten Versuche mit Bakterien haben gezeigt, daß die subjektive Schätzung des Wachstumsgrades mit den exakt ermittelten Werten (Ansteigen der Acidität der Nährlösung während der Wachstumsdauer) in guter Übereinstimmung steht. In der vorliegenden Arbeit beschränkte ich mich deshalb auf die Methode der subjektiven Schätzung, die zur oberflächlichen Orientierung über das Eisen-Optimum und -Maximum vollauf genügt, wenn Maß und Zahl auch in der Biologie stets das erstrebte Ziel bleiben muß.

Die Versuche wurden in Proberöhrchen ausgeführt, die mit Filtrierpapierstreifen beschickt und zu etwa einem Drittel mit Omelianski-Lösung gefüllt waren:

H_2O	100	$MgSO_4$	0,05
$(NH_4)_2SO_4$	0,1	NaCl	Spur
K_2HPO_4	0,1	$CaCO_3$	2

Diese Grundlösung erhielt in 6 Versuchsreihen folgende Zusätze von Mohrschem Salz, $(NH_4)_2SO_4 \cdot FeSO \cdot 6\ H_2O$: 0,00, 0,05, 0,10, 0,50, 0,75, 2,00%.

Die Bruttemperatur war 27° C.

In all diesen Versuchsreihen wurde in Abständen von je einigen Tagen das Wachstum des Pilzes festgestellt und dabei folgende „Wachstumsgrade" unterschieden, deren Aufzählung gleichzeitig die beobachtete Entwicklung des Pilzes schildert:

1. Ganz zarter Pilzbelag auf dem aus der Lösung hervorragenden Teil des Filtrierpapierstreifens (meist etwa bis zu 1 cm über dem Flüssigkeitsspiegel).
2. Schwacher grünlich-grauer Pilzbelag. Ausbreitung wie bei 1.
3. Mittelstarker, grauschwarzer Pilzbelag. Ausbreitung nach oben, etwa 2 cm hoch.
4. Starker, schwarzer Pilzbelag, Sporenbildung, Zellulosefasern von Hyphen umsponnen und vielfach angegriffen.
5. Sehr starke, schwarze Pilzdecke, meist den ganzen aus der Flüssigkeit ragenden Teil des Filtrierpapiers bedeckend. Zellulosefasern 1—2 cm über dem Wasser fast ganz verschwunden und durch Hyphen und ungeheuer viele Sporen ersetzt.

Das Ergebnis ist in dem folgenden Schaubild (Abb. 1) dargestellt:

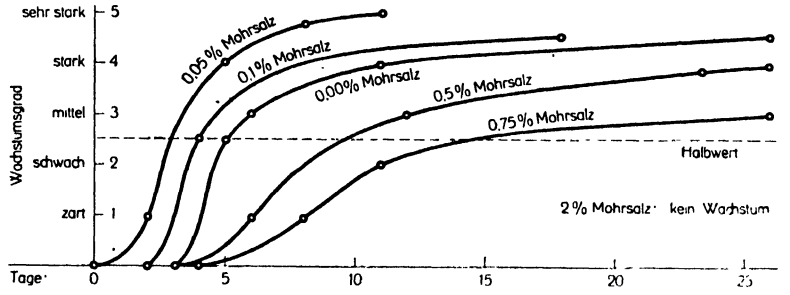


Abb. 1. Zellulosezerstörender Pilz.

Kleine Mohrsalzmengen wirken also deutlich fördernd, bei 0,05% liegt ein Höchstwert, größere Mengen (0,5% und mehr) hemmen und bei 2% unterbleibt jegliches Wachstum.

Trägt man den reziproken Wert der „Halbwertszeit" $\left(\frac{1}{H}\right)$, das ist jene Zeit, in der die Hälfte des höchsten Wachstumsgrades erreicht wird, als Ordinate und den Mohrsalzgehalt der Nährlösung als Abszisse auf, so erhält man eine sehr eindrucksvolle Kurve, die im folgenden Schaubild dargestellt ist. Zum Vergleiche ist auch die Kurve für den mehrfach erwähnten Bakterienstamm (1) eingezeichnet. Dieser Vergleich ist möglich, auch wenn bei den Bakterien eine andere Stufenleiter von „Angriffsgraden" angewendet worden ist, da ja hier nur Halbwertszeiten, also von der Höhe des Wachstumsgrades unabhängige Relativzahlen verglichen werden.

Der Höchstwert für den Pilz ist höher und liegt schon bei einem

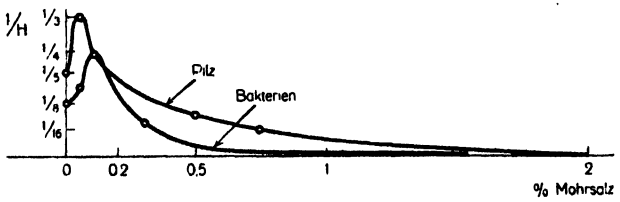


Abb. 2. Reziproke Halbwertszeit.

geringeren Mohrsalzgehalt (0,05% gegenüber 0,1% bei den Bakterien), die Kurve für den Pilz zeigt ferner jenseits des Höchstwertes ein viel flacheres Abklingen. Der Pilz ist also gegen Eisen merklich widerstandsfähiger als die Zellulosebakterien aus der gleichen Ackererde, was mit der allgemein höheren Widerstandsfähigkeit der Pilze gegenüber Ionenwirkungen in Einklang steht. Diese Eigenschaft haben die Pilze mit den niedrigen Algen gemeinsam, während Bakterien gegenüber höheren Ionenkonzentrationen viel empfindlicher sind. So hat O. Richter (4) bereits 1919 gezeigt, daß die Algen Chlorella und Stichococcus in 20proz. Lösung von $MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$ gut gedeihen und daß durch die Anwendung schon von 10% $MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$ als Zutat zu saurer Nährgelatine die absolute Reinkultur dieser Algen aus bakterienhaltigen Speziesreinkulturen möglich ist. Später konnte dann an Actinomyces oligocarbophilus-Stämmen gezeigt werden, daß sie sogar bei 5% NaCl oder 25% $MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$ (5) oder in einem anderen Falle bei 5% Mohrsalz (6) noch gut gedeihen. Diese Widerstandsfähigkeit gegen größere Salzkonzentrationen ist eine allgemeine Eigenschaft der Pilze, die ihre Trennung von den weniger widerstandsfähigen Bakterien ermöglicht. Boas (2) hat beobachtet, daß sich gewisse Ionen, die durch ein bestimmtes kolloidchemisches Verhalten gekennzeichnet sind, so namentlich das Rhodanion, für diesen Zweck besonders eignen; er hat diese Erscheinung als phyletisches Anionenphänomen bezeichnet. Unter Anwendung beider Arten von Ionen habe ich — wie anfangs erwähnt — die Erscheinung unter dem Namen „Ionenzuchtwahl" zur Grundlage eines Verfahrens zur Reinzucht von Pilzen gemacht (3). Die physikochemische Grundlage der Ionenzuchtwahl ist nach der überzeugenden Auffassung von Boas in der geringeren Hydratation jener auswählend wirkenden Ionen zu suchen. Solche sind nach Boas z. B. CNS', $Cs^{\cdot}$, $Mn^{\cdot\cdot}$, nach den Ergebnissen des erwähnten Reinkulturverfahrens (3) auch $Al^{\cdot\cdot\cdot}$. Sie stehen durchweg dem wenig hydratisierten Ende der Freundlichschen lyophilen Ionenreihen nahe, d. h. sie sind nur in geringem Maße mit Wasserteilchen beladen. Ein wenig hydratisiertes Ion bewirkt aber nach Abderhalden und Fodor (7) in Adsorptionsgleichgewichten eine Verschiebung von der Grenzfläche weg, also nach der Seite des unadsorbierten, gelösten Stoffes hin; das Ion wirkt adsorptionsverdrängend. Diese Erscheinung heißt nach Boas „Abderhaldensches Phänomen".

Es lag nun nahe, die Wirkung des Eisens auf den zellulosezerstörenden Pilz, sowie auf die früher beschriebenen (1) zellulosezerstörenden Bakterien — auch O. Richters eingehende Beobachtungen über die Bedeutung des Eisens für die Reispflanzen gehören hierher (8) — als Adsorptionsverdrängung durch das $Fe^{\cdot\cdot}$-Ion zu deuten. Während bei Abderhaldens Versuchen die Adsorption an Tierkohle vor sich geht, würden hier die kolloiden Eiweißteilchen der lebenden Zellen als Adsorbens wirken. Während Abderhalden Aminosäuren u. ä. adsorbierte, kämen bei den zellulosezerstörenden Kleinwesen als Adsorbenda vielleicht Zellobiose oder Glukose, die beiden ersten Abbauprodukte der unlöslichen Zellulose, in Betracht, vielleicht aber auch erst höhere Aufbaustoffe aus der Lebenstätigkeit der Kleinwesen, wie z. B. ebenfalls Aminosäuren. Ich machte es mir zur Aufgabe, diese Vermutung versuchsmäßig zu überprüfen.

Abderhalden und Fodor fanden u. a. für die Adsorptionsverdrängung von l-Leucin durch KCl (bei Tierkohle als Adsorbens) Werte, nach denen folgendes Schaubild (Abb. 3) zusammengestellt ist.

Anfangs also Adsorptionsverdrängung, bei höheren KCl-Konzentrationen Adsorptionserhöhung.

In Anlehnung an Abderhalden und Fodor arbeitete ich zunächst ebenfalls mit Tierkohle und mit einer Aminosäure, und zwar Asparagin. Je 20 ccm einer etwa 1proz. Asparaginlösung wurden mit steigenden Mengen Mohrsalz versetzt (0,75%) und dann je 2 g Tierkohle zugegeben. In einen entsprechenden Teil des Filtrates, das von der Kohle nach beendeter Adsorption abgetrennt worden war, wurde nun die noch verbliebene Menge Asparagin bestimmt. Als Analysenmethode diente in gleicher Weise wie bei Abderhalden die Formoltitration nach Sörensen, die auf einer Titration der organischen Säure mit n/10 NaOH in Gegenwart von Formaldehyd beruht. Da die Proben eisenhaltig waren, mußte ein Überschuß an n/10 NaOH zugesetzt und nach Abfiltrieren des gebildeten Eisenhydroxyds mit n/10 HCl gegen Phenolphthalein zurücktitriert werden. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tafel zusammengestellt, wobei der Verbrauch an n/10 NaOH ein unmittelbares Maß für die nicht adsorbierte Asparaginmenge, der Unterschied dieses Wertes gegenüber dem n/10 NaOH-Wert der nicht mit Kohle versetzt gewesenen Lösung also ein Maß der adsorbiert gebliebenen Asparaginmenge darstellt.

% Mohrsalz	Verbrauch an ccm n/10 NaOH a	ccm n/10 NaOH entsprechend der Adsorption b	Adsorbiert % des gesamten Asparagins c = 100 b: 15,3
—,— ohne Kohle	15,30	—	—
—,— mit „	9,10	6,20	40,5%
—,05 „ „	9,05	6,25	40,8%
—,10 „ „	8,40	6,90	45,1%
—,50 „ „	10,50	4,80	31,4%
—,75 „ „	12,80	2,50	16,34%

Das Ergebnis ist auch in Abb. 4 dargestellt, wobei die % Adsorption als Funktion der zugesetzten % Mohrsalz dargestellt sind (stark ausgezogene Kurve).

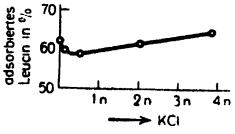


Abb. 3. Adsorptionsänderung bei Leucin durch KCl.

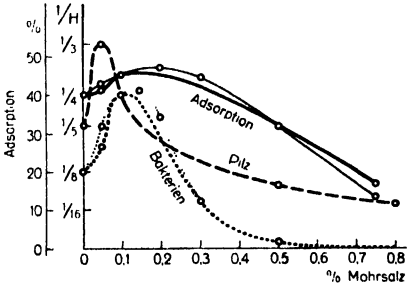


Abb. 4. Adsorptionsänderung bei Asparagin durch Mohrsalz, verglichen mit der reziproken Halbwertszeit.

Die Adsorptionskurve geht durch einen Höchstwert. Es tritt also bei mittleren Mohrsalzkonzentrationen eine Adsorptionserhöhung ein im Gegensatz zu den Versuchen von Abderhalden und Fodor (Abb. 3), denen zufolge bei mittleren Konzentrationen von KCl eine Adsorptionsverdrängung statthat. In der Abb. 4 sind als schwache, voll ausgezogene Linien noch die Wachstumskurven der beiden zellulosezerstörenden Klein-

wesen nach Abb. 2 eingetragen. Alle drei Kurven stimmen ihrem Wesen nach miteinander überein. Jene Mohrsalzkonzentrationen, welche die Adsorption von Asparagin an Kohle fördern, begünstigen auch das Wachstum der Kleinwesen. Die Adsorption von Asparagin an Kohle ist also ein Modellversuch für gewisse lebenswichtige Adsorptionsvorgänge in der lebenden Zelle, die durch die Ionen des Mohrsalzes beeinflußt werden. Vielleicht handelt es sich bei jenen Vorgängen wirklich um Adsorptionen von Aminosäuren als den ersten Aufbaustoffen aus Kohlenhydraten und dem anorganisch gebundenen Stickstoff der Nährlösung.

Es war nun noch zu überprüfen, ob nicht schon die unmittelbaren Abbaustoffe der unlöslichen Zellulose, die Zellobiose und Glukose, einer Adsorption unterliegen, die durch hydratisierte Ionen beeinflußt werden kann. Es wurde deshalb eine zweite Versuchsreihe mit einer 5proz. Glukoselösung, Tierkohle und den verschiedenen Mohrsalzmengen angesetzt. Als Analysenmethode diente nach Entfernung des $Fe^{\cdot\cdot}$ durch NH_3 und Filtration die Methode von Bertrand, die auf der Reduktion von Fehlingscher Lösung zu Cu_2O, Lösen des Cu_2O in H_2SO_4 und $Fe_2(SO_4)_3$ und Titrieren des gebildeten $FeSO_4$ mit n/10 $KMnO_4$ beruht. Es zeigte sich, daß keine nennenswerte Adsorption der Glukose an Tierkohle stattfindet, so daß auch keine Adsorptionsverdrängung studiert werden konnte.

Der gleiche Versuch wurde nun mit Hühnereiweiß als Adsorbens ausgeführt, das nach der Adsorption durch Kochen mit einer geringen Menge NH_4Cl ausgeflockt wurde. Auch hier ergibt sich keine nennenswerte Adsorption der Glukose. Die Versuche mit Glukose mußten daher als ergebnislos abgebrochen werden. Adsorptionen und ihre Förderung oder Hemmung durch Ionen treten in der lebenden Zelle der beobachteten Kleinwesen offenbar erst an einer späteren Stelle des Aufbaues der organischen Substanz, vielleicht von den Aminosäuren aufwärts ein.

Gesetzmäßigkeiten, wie sie sich in Abb. 4 ausdrücken, sind als Funktion zwischen dem Wachstum von Kleinwesen und einer Ionenkonzentration ihrer Nährlösung schon früher beobachtet worden. So gibt E. Janisch (9) für die relative Wachstumsgeschwindigkeit von Bac. casei als Funktion der Wasserstoffzahl (p_H) folgende Kurve (Abb. 5) nach O. Svanberg (10) an.

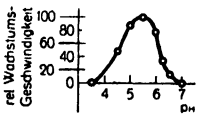


Abb. 5. Bac. casei.

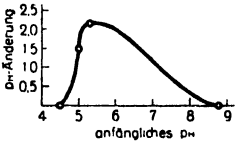


Abb. 6. Bac. fluorescens non liquefaciens.

Für die Alkalierzeugung von Bac. fluorescens non liquefaciens, also ebenfalls ein Maß seines Wachstums (dargestellt als p_H-Änderung), als Funktion des p_H gibt Janisch (11) nach Berridge (12) die folgende nach einem Wachstum von 48 Std. aufgenommene Kurve (Abb. 6).

Beide Kurven zeigen den gleichen Verlauf wie die Kurven der Abb. 4 (Wachstum der zellulosezerstörenden Kleinwesen und Adsorptionsverdrängung als Funktion der Mohrsalzkonzentration). Janisch deutet sie rein mathematisch als Reziproke einer Kettenlinie, deren Gleichung in allgemeinster Form

$$\frac{1}{y} = m\,(a^{x+p} + a^{-x+s}) \ldots . \text{(Gl. 1)}$$

lautet. Nach den Gedankengängen von Janisch ergibt sich jedoch in diesem Falle keine weitere biologische Begründung der Gleichung. Eine solche ist aber möglich, wenn wir die Kurve durch

$$y = e^{a + b x - c x^2} \quad \ldots \text{(Gl. 2)}$$

ausdrücken. Diese Gleichung folgt durch Integration aus einer Differentialgleichung, die sich auf Grund eines biologisch bzw. kolloidchemisch naheliegenden Postulates aufstellen läßt. Dieses Postulat handelt von der Wachstumsgeschwindigkeit, für welche die „reziproke Halbwertszeit" $\frac{1}{H}$ ein Maß ist, bzw. von der Adsorptionsänderung in Gegenwart von hydratisierten Ionen. Es lautet: „Die Änderung der Wachstumsgeschwindigkeit (der Adsorption) nach der Ionenkonzentration, bezogen auf die Einheit der Wachstumsgeschwindigkeit (der Adsorption) — man kann dies die ‚spezifische Änderung der Wachstumsgeschwindigkeit (der Adsorption)' nennen — fällt linear mit der Ionenkonzentration (13)." Im folgenden bedeutet y die Wachstumsgeschwindigkeit $\frac{1}{H}$ bzw. die Adsorption, ausgedrückt in % der Gesamtmenge des zur Adsorption bestimmten Stoffes, und x die Ionenkonzentration (in unserem besonderen Falle die Konzentration der $Fe^{\cdot\cdot}$-Ionen); b und c sind Konstante. Dann lautet der mathematische Ausdruck für den postulierten Satz:

$$\frac{dy}{dx} \cdot \frac{1}{y} = b - cx \quad \ldots \text{(Gl. 3)}.$$

Daraus folgt: $\frac{dy}{y} = bdx - cxdx$

$$\ln y = bx - cx^2 + a \qquad a = \text{Integrationskonstante.}$$

$$y = e^{a + b x - c x^2} \quad \ldots \text{(identisch mit Gleichung 2).}$$

Dieser allgemeinen, aus einem biologisch bzw. adsorptionschemisch naheliegenden Postulate abgeleiteten Gleichung entsprechen Kurven, die für bestimmte Werte der Konstanten a, b und c weitgehende Übereinstimmung mit den in Abb. 4 dargestellten Kurven des Bakterienwachstums und der Adsorption zeigen. Diese Konstanten sind:

für das Bakterienwachstum:	a = 0,6932
	b = 1,1248
	c = 0,4317
für die Adsorption:	a = 1,3863
	b = 0,1600
	c = 0,0422

In Abb. 4 sind die Kurven, welche sich mit diesen Konstanten ergeben, gestrichelt eingezeichnet; die befriedigende Übereinstimmung mit den versuchsmäßig ermittelten Kurven — besonders für die Adsorption — ist ersichtlich. Dadurch wird die Richtigkeit des Postulates, das zu der Gleichung geführt hat, sehr wahrscheinlich gemacht.

Für das Wachstum des Pilzes ließen sich keine Konstanten auffinden, die, in Gleichung 2 eingesetzt, eine Kurve von genügender Übereinstimmung ergeben hätten. Wählt man die Konstanten so, daß das steile Aufwärtsstreben zu dem hochgelegenen Maximum bei 0,05% Mohrsalz ausgedrückt wird, so fällt die errechnete Kurve auch jenseits von 0,1% merklich steiler

ab als die versuchsmäßig ermittelte; trägt man hingegen bei der Wahl der Konstanten dem breiten Abklingen der versuchsmäßigen Kurve Rechnung, so fällt das Maximum der errechneten Kurve viel zu flach aus.

Auf S. 50 wurde wahrscheinlich gemacht, daß es sich bei der Wirkung des Fe"-Ions auf den Lebensvorgang der beobachteten Kleinwesen um eine Förderung bzw. Hemmung einer Adsorption von Aminosäuren und vielleicht höheren Aufbaustoffen in der lebenden Zelle handelt. Die Kurve laut Gleichung 2 deckt die versuchsmäßige Kurve für die Adsorption von Asparagin an Tierkohle sehr weitgehend (vgl. Abb. 4, stark ausgezogene und zugehörige gestrichelte Linie). Unterscheidet sich nun die Wachstumskurve für den Pilz von der errechneten Kurve durch das steile Aufwärtsstreben zu einem Maximum, das die errechnete Kurve nicht in so ausgeprägtem Maße zeigt, so muß hier außer der adsorptionschemischen Ionenwirkung noch eine spezifische Eisenwirkung vorliegen, in der das Eisen offenbar die Rolle eines Nährstoffes spielt. Diese Folgerung erscheint um so berechtigter, als Molisch (14) bereits 1892 den Nachweis erbracht hat, daß Aspergillus niger ohne Eisen nicht zur Fruktifikation gelangen kann. Er hat es dabei sehr wahrscheinlich gemacht, daß Aspergillus, wie vermutlich auch alle anderen Pilze, sich ohne Eisen überhaupt nicht zu entwickeln vermögen.

In unserem Falle addiert sich bei geringen Eisenkonzentrationen die spezifische Nährstoffwirkung des Eisens zur Adsorptionsförderung; daher das steile Emporstreben zum Maximum. Bei höheren Konzentrationen überwiegt die Adsorptionshemmung.

Die gleiche Überlegung trifft überdies bis zu einem gewissen Grade auch für die untersuchten Bakterien zu. Man muß sich nämlich vergegenwärtigen, daß der Wert $\frac{1}{H} = \frac{1}{8}$, mit dem die Kurve bei 0% Mohrsalz beginnt, von Versuchen mit nicht absolut eisenfreier Nährlösung herstammt, während — wie ich nachweisen konnte — bei Versuchen mit einem nach besten Kräften eisenfrei gemachten Nährboden jedes Wachstum unterbleibt (15). Wählt man in diesem Sinne den Wert $\frac{1}{H} = 0$ als Ausgangspunkt der Kurve, so ergibt sich ebenso wie beim Pilz ein sehr steiles, von der errechneten Kurve nicht gedecktes Ansteigen zum Maximum, das als eine spezifische Nährstoffwirkung des Eisens zu deuten ist. Jenseits des Maximums haben wir dann im Einklang mit der errechneten Kurve den Wachstumsabfall durch Adsorptionsverdrängung.

Es ist mir ein Herzensbedürfnis, am Schlusse noch meinem hochverehrten Lehrer, Herrn o. ö. Professor Dr. Oswald Richter, für die Anteilnahme an dem Entstehen dieser Arbeit, deren biologisch-versuchsmäßiger Teil bereits in die Jahre 1930 bis 1932 fällt, aufrichtigst zu danken. Daran schließe ich meinen herzlichen Dank an Herrn Dr. phil. F. Schoblik, Brünn, für gewisse mathematische Ratschläge.

Zusammenfassung.

Aus der eisenreichen „roten Erde" Nordostböhmens wurde ein zellulosezerstörender Pilz gewonnen, welcher der Gattung Monosporium nahesteht. Er zeigt einen Höchstwert seines Wachstums bei 0,05% Mohrsalz (0,0071% Fe) und erweist sich sowohl dadurch, als auch durch sein Verhalten bei höheren Mohrsalzkonzentrationen als merklich widerstandsfähiger

gegen Eisen, als die aus der gleichen Ackererde reingezüchteten, in einer früheren Arbeit beschriebenen, aeroben zellulosezerstörenden Bakterien. Die Änderung der Adsorption von Asparagin an Tierkohle durch den Einfluß von Mohrsalz wurde ermittelt und ihre weitgehende formale Übereinstimmung mit dem Verhalten der beschriebenen Kleinwesen gegen Mohrsalz festgestellt. Diese Übereinstimmung beruht vermutlich darauf, daß das Fe''-Ion fördernd oder hemmend auf Adsorptionen von Aminosäuren oder höheren Aufbaustoffen in der lebenden Zelle wirkt. Die Wahrscheinlichkeit dieser Annahme erhärtet die Ableitung einer mathematischen Gleichung, der sowohl das Wachstum der zellulosezerstörenden Kleinwesen als auch die Adsorption von Asparagin an Tierkohle gehorchen. Gewisse Abweichungen der beiden versuchsmäßig gefundenen Wachstumskurven von den errechneten werden unter Hinweis auf die exakten grundlegenden Untersuchungen von Molisch aus dem Jahre 1892 als eine spezifische Ernährungswirkung gedeutet, die dem Fe''-Ion neben seiner adsorptionschemischen Wirkung zukommt.

Schrifttum.

1. Bojanovsky, R., Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 88. 1933. S. 1. — 2. Boas, Fr., „Das phyletische Anionenphänomen". Jena 1927. — 3. Eine diesbezügliche Arbeit erscheint in Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 99. 1938. S. 55. — 4. Richter, O., Anzeiger d. Akad. d. Wissenschaft in Wien. Jahrg. 1919. S. 201. — 5. Kober, B., Zentralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 79. S. 370. — 6. Bojanovsky, R., Verhandlungen des Naturforschenden Vereins in Brünn. Jahrg. 64. 1933. S. 55. — 7. Abderhalden, E. und Fodor, A., Kolloid-Ztschr. Bd. 27. 1920. S. 49. — 8. Richter, O., Sitzungsber. d. Akad. d. Wissensch. Wien, math.-naturw. Kl., Abt. I. Bd. 135. 1926. Heft 5 u. 6. — 9. Janisch, E., „Das Exponentialgesetz als Grundlage einer vergleichenden Biologie". Berlin 1927. S. 160. — 10. Svanberg, O., Hoppe-Seylers Ztschr. f. physiol. Chemie. Bd. 108. 1919—20. S. 120. — 11. Janisch, E., a. a. O. S. 196. — 12. Berridge, E. M., Ann. of appl. biol. Vol. 11. 1924. S. 73. — 13. Bezüglich eines ähnlichen formalen Ansatzes für Wachstumsformeln vgl. Wilhelm Ludwig, Biol. Zentralbl. Bd. 49. 1929. S. 735—758. — 14. Molisch, H., Die Pflanze in ihrer Beziehung zum Eisen. Jena 1892. — 15. Bojanovsky, R., Zentralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 88. 1933. S. 8—10.

Nachdruck verboten

Absolute Reinkulturen von Pilzen aus Speziesreinkulturen durch Ionenzuchtwahl (phyletisches Ionenphänomen).

[Aus dem Institut für Botanik, Warenkunde, techn. Mikroskopie und Mykologie an der deutschen technischen Hochschule in Brünn. Veröffentlichung Nr. 115.]

Von **Rudolf Bojanovsky.**

Mit 2 Abbildungen im Text.

A. Aufgabestellung.

Anläßlich einer Reihe von Arbeiten über eisenbedürftige Kleinwesen züchtete ich aus einer eisenreichen roten Ackererde einen zellulosezerstörenden Schimmelpilz. Die Rohkultur war mit zellulosezerstörenden Bakterien und pflanzlichen Flagellaten verunreinigt. Durch Ausgüsse in Zellulose-Kieselsäureplatten (1) gelang es wohl, die Flagellaten zu entfernen, doch blieb der Pilz auch weiterhin mit Bakterien verunreinigt. Es lag also bloß eine

Speziesreinkultur (2) des Pilzes vor. Das mag damit zusammenhängen, daß bei Zellulosezerstörern, die auf Zellulose, also einem unlöslichen Nährstoff, gezüchtet werden, stets eine größere Impfmasse nötig ist; müssen doch diese Kleinwesen durch die Wirkung ihrer Enzyme die zu ihrer Ernährung nötigen gelösten organischen Verbindungen erst selbst herstellen. In den Zellulose-Kieselsäureplatten entstehen daher Kolonien nur dort, wo eine etwas größere Menge Impfmasse auf eine Zellulosefaser bzw. (bei gefällter Zellulose) auf ein Zelluloseteilchen auftrifft. Sind nun Pilzsporen und Bakterien in der Rohkultur innig vermengt, so ist die Wahrscheinlichkeit sehr groß, daß eine ausreichende Pilzimpfmasse auch Bakterien enthält, und die Plattenmethode muß daher versagen.

Ich versuchte deshalb, den Pilz von den Begleitbakterien durch Anwendung des phyletischen Anionenphänomens zu trennen. Mit diesem Namen bezeichnet F. Boas (3) die Tatsache, daß jene Anionen der Freundlich schen lyotropen Anionenreihe, die am wenigsten hydratisiert sind, das Wachstum von Pilzen weit weniger hemmen, als das von Bakterien. Die stärkste Wirkung in diesem Sinne kommt nach Boas dem Rhodanion (CNS') zu. In einer 0,2—0,24 molaren NaCNS-Lösung konnte Boas alle Bakterien niederhalten, während Pilze gediehen. Die Aufgabe, die ich mir stellte, bestand also zunächst darin, diese Erscheinung auf meinen besonderen Fall, die Trennung des zellulosezerstörenden Pilzes von den begleitenden zellulosezerstörenden Bakterien, anzuwenden und allfällige Abweichungen von den Boasschen Beobachtungen, die etwa dabei auftreten würden, festzustellen.

Da meine diesbezüglichen Versuche ergaben, daß das phyletische Anionenphänomen zur Überführung einer Speziesreinkultur eines Pilzes in die absolute Reinkultur ausgezeichnet geeignet ist, stellte ich weitere Versuche mit Aspergillus niger und Milchsäurebakterien an und zog in den Kreis meiner Betrachtungen auch Kationen, von denen sich das Aluminium als besonders geeignet erwies. Dementsprechend zerfällt der versuchsmäßige Teil dieser Arbeit in zwei Abteilungen: zellulosezerstörender Pilz mit CNS' und Aspergillus niger mit CNS' und Al'''.

B. Absolute Reinkultur eines zellulosezerstörenden Pilzes durch das Rhodanion.

Die bakterienhaltige Speziesreinkultur des Pilzes wurde auf Filtrierpapierstreifen in Proberöhrchen geimpft. Als Nährlösung, mit der die Röhrchen zu $^1/_3$ gefüllt wurden, diente Omelianski-Lösung, die mit Rücksicht auf die Herkunft des Pilzes aus eisenreicher Ackererde mit 0,05% Mohrschem Salz versetzt wurde.

H_2O	100	NaCl	Spur
$(NH_4)_2SO_4$	0,1	$(NH_4)_2SO_4 \cdot FeSO_4 \cdot 6\,H_2O$	0,05
K_2HPO_4	0,1	$CaCO_3$	2
$MgSO_4$	0,05		

In einer Versuchsreihe wurde dieser Nährboden folgendermaßen angewendet:

1. ohne Zusatz,
2. mit 0,35 mol KCNS im Liter (2,43%), also jene CNS'-Konzentration, in der nach Boas Bakterienwachstum unterbleibt,
3. mit 0,50 mol KCNS im Liter (4,86%),
4. mit 0,75 mol KCNS im Liter (7,29%),

Die Bruttemperatur war 27° C.

In den Versuchsreihen 1 und 2 trat schon nach einigen Tagen gleichzeitig mit dem ersten zarten Pilzbelag lebhafte Bakterienentwicklung auf. Bei den vorliegenden zellulosezerstörenden Bakterien reichen also im Gegensatz zu den zahlreichen von Boas beobachteten gramnegativen Bakterien 0,25 mol CNS' zur Niederhaltung ihres Wachstums nicht aus.

In den Versuchsreihen 3 und 4 (0,5 bzw. 0,75 mol CNS') unterblieb jegliches Bakterienwachstum, in der Versuchsreihe 4 kam außerdem auch der Pilz nicht mehr auf.

Die zweckmäßige CNS'-Konzentration war also 0,5 mol (4,85%) KCNS und die Speziesreinkultur des Pilzes, die eine Passage auf dem Nährboden laut Versuchsreihe 3 durchgemacht hatte, war nun absolut rein.

Mit steigender CNS'-Konzentration wird selbstverständlich auch der Pilz gehemmt und schließlich (bei 0,75 mol) ganz unterdrückt. Die auswählende Wirkung des Ions beruht eben darauf, daß es die Bakterien stärker hemmt und bei geringeren Konzentrationen unterdrückt als den Pilz. Um eine wenigstens annähernd richtige zahlenmäßige Erfassung der Wachstumshemmung durch steigende CNS'-Konzentrationen zu ermöglichen, habe ich subjektiv folgende „Wachstumsgrade" unterschieden:

1. ganz zarter Pilzbelag auf dem aus der Lösung hervorragenden Teil des Filtrierpapierstreifens (meist etwa bis zu 1 cm über dem Flüssigkeitsspiegel),
2. schwacher, grünlich-grauer Pilzbelag, Ausbreitung wie bei 1,
3. mittelstarker, grauschwarzer Pilzbelag, Ausbreitung nach oben etwa 2 cm hoch,
4. starker, schwarzer Pilzbelag, Sporenbildung, Zellulosefasern von Hyphen umsponnen und vielfach angegriffen,
5. sehr starke, schwarze Pilzdecke, meist den ganzen aus der Flüssigkeit ragenden Teil des Filtrierpapiers bedeckend, Zellulosefasern 1—2 cm über dem Wasser fast ganz verschwunden und durch Hyphen und ungeheuer viele Sporen ersetzt.

Bei den vier Versuchsreihen wurde nun in Abständen von je einigen Tagen der Wachstumsgrad des Pilzes festgestellt und als Funktion der seit der Impfung verflossenen Zeit in ein Schaubild eingetragen. Für jede CNS'-Konzentration ergibt sich also eine Kurve (Abb. 1).

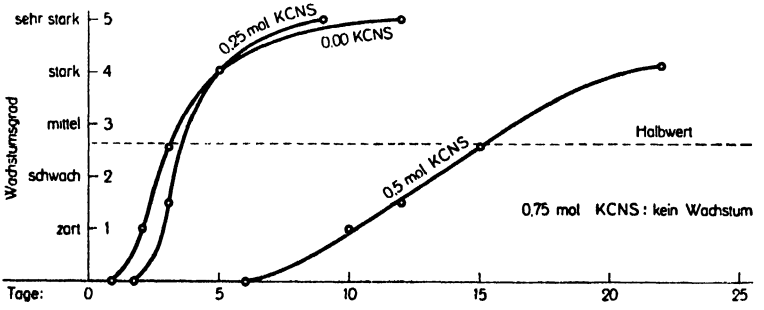


Abb. 1. Zellulosezerstörender Pilz.

Mit zunehmender CNS'-Konzentration steigt also die Wachstumshemmung. Daß die Kurve für 0,25 mol die für die CNS'-freie Lösung am Ende überschneidet, dürfte wohl auf Versuchsfehler zurückzuführen sein, wie sie bei einer bloß subjektiven Schätzung des Wachstumsgrades unvermeidlich sind.

Um die Kurvenschar, die sich bei verschiedenen Werten eines wachstum-

fördernden oder -hemmenden Zusatzes ergibt, auf eine einzige, leicht überblickbare Kurve zurückzuführen, bediene ich mich des aus der Lehre von der Radioaktivität entlehnten Begriffes der „Halbwertzeit" (4). Abszisse ist die Konzentration, Ordinate der reziproke Wert jener Anzahl Tage, nach denen die Hälfte des höchsten beobachteten Wachstumsgrades erreicht ist $\left(\frac{1}{H}\right)$ (Abb. 2).

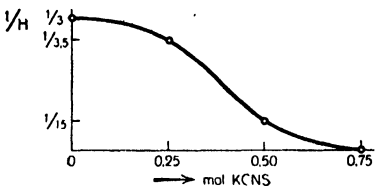


Abb. 2.

Die Kurve fällt — wenn auch nicht linear — so doch stetig ab. Ein Höchstwert fehlt; es gibt also keine stimulierende Wirkung des CNS', wie sie etwa bei Fe" auftritt (5). Besonders steil ist der Abfall zwischen 0,25 und 0,50 mol. In diesem Bereiche liegt die Stelle, wo die Bakterien nicht mehr vorwärtszukommen vermögen.

C. Bakterienfreies Wachstum von Aspergillus niger.

Die Rhodanmethodik sollte nun an einem technisch wichtigen Schimmelpilz, Aspergillus niger, überprüft werden. Eine natürliche Speziesreinkultur, von der man annehmen muß, daß die Begleitbakterien den Lebensbedingungen des Pilzes angepaßt sind, stand mir hier nicht zur Verfügung. Ich mußte von einer absoluten Reinkultur ausgehen. Die als Verunreinigung erwünschten Bakterien mußten künstlich zugesetzt werden, und es war die Fehlerquelle zu vermeiden, die darin bestand, daß willkürlich gewählte Bakterien etwa von Haus aus durch den für den Pilz verwendeten Nährboden oder durch seine Gärungsprodukte (Säuren!) gehemmt würden. Deshalb fiel die Entscheidung auf Milchsäurebakterien, die der saueren Pilz-Nährlösung noch besonders angepaßt wurden.

Als Nährlösung diente in der Regel:

H_2O	80	K_2HPO_4	0,6
$(NH_4)_2SO_4$	0,725	Melasse	20

Diese Nährlösung reagiert gegen Lackmus neutral. Als saurer Nährboden wurde die gleiche Lösung mit einem Zusatz von soviel Zitronensaft (zugleich Vitaminquelle) verwendet, als zur sauren Reaktion gegen Methylorange nötig war. Der Aspergillus gedieh auf der sauren Lösung besser. Milchsäurebakterien hingegen, die aus saurer Milch oder aus Gurkenwasser genommen wurden, kamen in der sauren Melasselösung zunächst nicht auf. Sie wurden dann durch Ausgüsse in neutralem Melasseagar reingezüchtet und zeigten nach einigen Passagen über neutrale Melasselösung nun doch die Fähigkeit, auf saurer Melasselösung gut vorwärtszukommen.

Mit Mischkulturen beider Kleinwesen wurden nun einige orientierende Rhodanversuche ausgeführt, deren Ergebnisse im allgemeinen mit den Angaben von Boas übereinstimmten. Bloß die Rhodangrenze für Aspergillus niger, die Boas (6) mit 1,9 mol als der noch zulässigen Konzentration angibt, wurde bei dem vorliegenden Stamm tiefer gefunden. Bei 1,8 mol unterbleibt bereits jegliches Wachstum, und erst bei 1,4 mol trat eine sehr verzögerte Pilzentwicklung auf.

Die grundsätzliche Anwendbarkeit des phyletischen Anionenphänomens auch auf diese technisch interessante Frage war mithin festgestellt. Rhodanid ist jedoch teuer und muß noch dazu in ziemlich hoher Konzentration angewendet werden (bei gramnegativen Bakterien, wie im vorliegenden Falle

mindestens 0,25 m = 2,42% KCNS). Gibt doch Boas selbst an (7), daß er Penicillium und Mucor von Bakterien (offenbar grampositiven) auf Gelatineplatten erst mit 0,85 m NaCNS (6,88%) befreien konnte. Es handelte sich mir deshalb darum, das Rhodanid durch ein billigeres und nach Möglichkeit schon in geringerer Konzentration wirksames Salz zu ersetzen. Kolloidchemische Überlegungen veranlaßten mich, Versuche mit dem Al'''-Ion zu machen, die tatsächlich den gewünschten Erfolg zeigten. Die Milchsäurebakterien und der Schimmelpilz wurden jedes für sich und auch in Mischkulturen in saurer Melasselösung oder ebensolcher 10proz. Rohrzuckerlösung mit verschiedenen Aluminiumsulfatgehalten geimpft. Das Ergebnis ist folgendes:

Grammionen Al je Liter	Bakterien	Aspergillus niger
0,20	0	0
0,10	0	0
0,05	0	nach 2—3 Tagen erstes Wachstum
0,03	0	nach 4 Tagen Pilzdecke
0,01	nach 2—3 Tagen Trübung nach 5 Tagen Kahmhaut	nach 2 Tagen starkes Wachstum
0,00	nach 3 Tagen Trübung nach 5 Tagen Kahmhaut	nach 4 Tagen Pilzdecke

Bei 0,01 Al''' kommen die Bakterien bereits lebhaft vorwärts und werden gegenüber der Al-freien Lösung zu Beginn des Wachstums sogar ein wenig stimuliert. Die geeignete Konzentration für das Fortkommen des Pilzes und die gleichzeitige Niederhaltung der Bakterien ist also 0,3 Grammion im Liter = 1% $Al_2(SO_4)_3 \cdot 18\ H_2O$.

Um festzustellen, inwieweit die Wirkung des $Al_2(SO_4)_3$ auf seine saure Reaktion zurückzuführen ist, habe ich die Milchsäurebakterien noch in folgenden Nährlösungen gezüchtet:

1. Zuckerlösung:

Wasser	100	K_2HPO_4	0,6
Rohrzucker	10	$MgSO_4$	Spur
$(NH_4)_2SO_4$	0,5	NaCl	Spur

$p_H = 9$

2. Zuckerlösung mit 1% $Al_2(SO_4)_3 \cdot 18\ H_2O$; $p_H < 4$.
3. Wie 2, aber mit $p_H = 9$, wozu für je 10 ccm Lösung ein Zusatz von 1,8 ccm n/2 NaOH nötig ist.
4. Wie 1, aber mit 1,8 ccm n/2 HCl je 10 ccm Lösung (gleiche Azidität wie Lösung 2, aber kein Al.).

Ergebnis:

Reihe	Lösung	
1	alk. ohne Al.	schon nach einem Tag trübe, dann sehr kräftiges Bakterienwachstum
2	sauer mit Al.	0
3	alk. mit Al.	keine Trübung, mikroskopisch vereinzelte Bakterien (Impfmasse?)
4	sauer ohne Al.	keine Trübung, mikroskopisch ziemlich viele Bakterien, z. T. auch in Zellverbänden

Die starke Azidität der $Al_2(SO_4)_3$-Lösung wirkt also an der vollständigen Niederhaltung der Bakterien mit; den ausschlaggebenden Anteil daran hat aber das $Al^{\cdots}$-Ion.

Mein verehrter Lehrer, Herr o. ö. Professor Dr. Oswald Richter, hat auch das Entstehen dieser Arbeit, deren versuchsmäßiger Teil bereits in die Jahre 1930—32 fällt, mit großem Interesse verfolgt, und ich gestatte mir, ihm dafür auch an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Zusammenfassung.

1. In Anlehnung an das phyletische Anionenphänomen von Boas wurde ein speziesreiner zellulosezerstörender Pilz durch Einwirkung von 0,5 mol/l KCNS in absolute Reinkultur gebracht.

2. Die Anwendbarkeit des $Al^{\cdots}$-Ions für ähnliche Zwecke wurde an dem Beispiel der Reinzucht von Aspergillus niger mit 0,03 mol/l $Al_2(SO_4)_3$ dargetan.

Schrifttum.

1. Bezüglich dieser Methodik vgl. Bojanovsky, R., Zentralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 74. 1925. S. 222. — 2. Die Begriffe und Bezeichnungen „Speziesreinkultur" und „absolute Reinkultur" stammen von O. Richter (Handwörterbuch der Naturw., Jena 1913. Bd. 8. S. 208). Sie haben sich seither im Schrifttum weitgehend eingebürgert. — 3. Boas, Fr., Das phyletische Anionenphänomen. Jena 1927. — 4. Bojanovsky, R., Zentralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 88. 1933. S. 1. — 5. Eine diesbezügliche Arbeit ist in Zentralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 99. 1938. S. 48 erschienen. — 6. Boas, Fr., a. a. O. S. 50. — 7. Ders., a. a. O. S. 54.

Nachdruck verboten.

Petersilie, eine neue Wirtspflanze von Erysiphe umbelliferarum De Bary.

[Aus der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem.]

Von **K. Röder** und **H. Schultz.**

Mit 2 Abbildungen im Text.

Die Petersilie (Petroselinum hortense Hoffm. [P. sativum Hoffm.]) wird im allgemeinen recht wenig von pilzlichen Schädigern heimgesucht. Durch einen Fund in Großbeeren in der Nähe Berlins, im Herbst 1937, konnte die kurze Liste der Krankheitserreger dieser Gemüseart um einen Mehltaupilz vermehrt werden.

Obwohl sich die Mehltaupilze vor allem im Hochsommer ausbreiten, wurden die ersten Spuren dieses Parasiten an der Petersilie erst am 21. September gefunden. Die Oidien traten anfangs an der Sorte „Gewöhnliche Schnitt" auf. Perithezien wurden zu dieser Zeit noch nicht beobachtet. In der zweiten Oktoberhälfte war an der obenerwähnten Sorte und an der Sorte „Lange glatte, unvergleichliche", ebenfalls glattblättrig, die höhere Fruchtform in reifem Zustand vorhanden. Hauptsächlich an den Stengeln wurden die Fruchtkörper festgestellt, und nur ganz vereinzelt an den Blättern.

Die abgeplatteten Perithezien hatten im Mittel einen Durchmesser von 110 μ. Die Größe schwankte zwischen 90 und 140 μ. Die meistens ver-

zweigten Anhängsel maßen in der Länge 70—125 μ, im Mittel 90 μ und in der Breite 5—8 μ. In den Gehäusen wurden 6—8, seltener 4—10 Asci gefunden. Die Ausmaße betrugen 64×36, im allgemeinen 58—75×30—55 μ. Die Anzahl der in den Asci vorhandenen Sporen schwankte zwischen 3 und 4, seltener zwischen 2 und 5. Die eiförmigen Askosporen waren 24×15 (20 bis 27×12—17) μ groß. Die mehr walzen- als tonnenförmigen Oidien hatten eine Größe von 24—46×11—19 μ, im Mittel 35×14.5 μ (s. Abb. 1).

Die hier angegebenen Maße und Merkmale stimmen genau mit Erysiphe umbelliferarum De Bary überein. Da diese auf Umbelliferen häufige Mehltauspezies auf der mit der Petersilie nahe verwandten Sellerie, Apium graveolens L. in Rußland beobachtet worden ist, lag die Vermutung nahe, daß es sich um Erysiphe umbelliferarum handelt und daß auch die Sellerie von dieser Pilzform angegriffen wird.

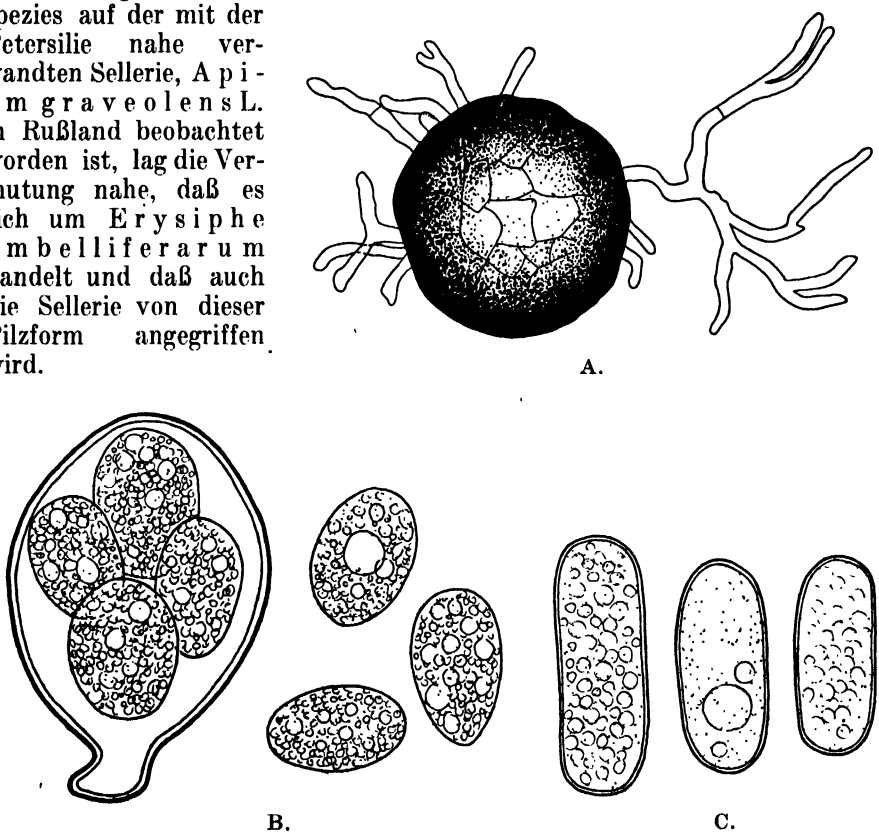


Abb. 1. Erysiphe umbelliferarum De Bary an Petersilie. A. Perithezium (Vergr. 335fach). B. Ascus und Askosporen (Vergr. 750fach). C. Oidien (Vergr. 750fach).

Um hierüber Aufklärung zu erhalten und um weiterhin zu untersuchen, ob noch andere Petersiliensorten, spez. solche mit krausen Blättern (Schnittpetersilie) von dieser Erysiphe-Spezies befallen werden, wurden einige in Großbeeren angebaute Petersiliensorten aus der Erde genommen und im Gewächshaus in große Töpfe gesetzt. Als Infektionsmaterial dienten die beiden glattblättrigen Sorten: „Gewöhnliche Schnitt“ und „Lange, glatte, unvergleichliche“, die im Freiland befallen waren. Hiermit wurden folgende Petersiliensorten mit krausen Blättern im Gewächshaus infiziert: „Edelstein“, „Farnblättrige“, „Krause“, „Mooskrause“ und „Perfektion Zwerg“.

Da von der Sellerie keine großen Pflanzen zur Verfügung standen, wurden jüngere genommen, die in Berlin-Dahlem angezogen waren. Folgende Sorten wurden in Pikierkästen gepflanzt: „Amsterdamer", „Apfel", „Aromatischer extra krauser", „Delikateß", „Erfurter", „Glückstädter", „Imperator", „Magdeburger Markt", „Mausberg", „Naumburger Riesen", „Nutendörfer", „Prager Riesen", „Riesenalabaster", „Riesenkugel", „Saxa" und „Wiener".

In der für die Infektionsversuche dienenden Zelle eines Gewächshauses herrschten Temperaturen zwischen 14 und 18° C. Nachts sank die Temperatur häufig auf 6—8° C herab. Der Boden der Zelle wurde stets feucht gehalten, um eine möglichst hohe Luftfeuchtigkeit zu erreichen. Außerdem wurden die Pflanzen häufig mit Wasser bespritzt. Diese Außenbedingungen kann man als günstig ansehen, denn der Mehltau begann sich sehr bald auf den im Freiland befallenen Pflanzen auszubreiten. Die Oidien- und auch die Perithezienbildung war außerordentlich stark, wobei das Wachstum der Petersilie zufriedenstellend blieb. Sie verjüngte sich sehr bald und bildete große Blattrosetten. Nicht nur die älteren, sondern auch die jüngeren Blätter und Blattstiele der beiden obenerwähnten, befallenen Petersiliensorten zeigten nach kurzer Zeit den weißen Belag des Pilzes. Die Perithezienbildung folgte sehr bald der Oidienentwicklung. Besonders häufig waren die Fruchtkörper an den Blattstielen vorhanden (s. Abb. 2). Von diesen Oidien und Askosporen, sowie von dem Material, das in Großbeeren gesammelt worden ist, wurden Aufschwemmungen hergestellt, mit denen die Petersiliensorten mit krausen Blättern und die Selleriepflanzen bespritzt wurden. Außerdem wurden stark befallene, lebende Blätter der Petersilie mit den zu infizierenden Pflanzen in ständige Berührung gebracht. Auf den beiden glattblättrigen Sorten breitete sich der Pilz weiterhin aus. Der Befall der Pflanzen war am Ende des Versuches so stark, daß eine Schädigung durch den Pilz unverkennbar war. Die Pflanzen sind im Wachstum zurückgeblieben. Die mit dem Mehltau überzogenen Blätter fingen sehr früh an zu welken, schrumpften ein und starben bald ab. Die übrigen Petersilie- und die Selleriepflanzen zeigten nicht die geringsten Anzeichen eines Befalls, obwohl die Infektionsversuche mehrfach wiederholt wurden. Auch das Berühren der gesunden Petersilie- und Selleriepflanzen mit mehltaubefallenen lebenden Stengeln führte zu keinem Infektionserfolg. Ebensowenig wurde ein Befall an Pflanzen beobachtet, die unter den kranken Petersilienblättern standen.

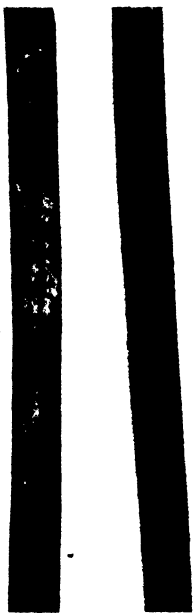


Abb. 2. Perithezien von Erysiphe umbelliferarum De Bary an Petersiliestengeln.

Da sich der Mehltau auf den im Freiland befallenen Pflanzen im Gewächshaus sehr stark ausbreitete, die übrigen Petersilie- und Selleriepflanzen aber keinerlei Anzeichen eines Mehltaubefalles aufwiesen, muß gefolgert werden, daß das Wachstum dieser Form der Erysiphe umbelliferarum de Bary nur auf die glattblättrigen Petersiliensorten beschränkt ist, daß also eine weitgehende Spezialisierung vorliegt. Die Annahme, daß der Petersilienmehltau auf die Sellerie übergeht, bestätigte sich somit nicht; denn sonst hätte eine Infektion der Sellerie im Gewächshaus erfolgen müssen. Weiterhin wurden

sowohl auf den Blättern der krausen Petersilie, als auch auf denen der Sellerie gekeimte Oidien in großer Zahl gefunden, aber in keinem Fall vermochten die Keimhyphen auf den Blättern einen Neubefall zu verursachen. Die Erysiphe umbelliferarum bildet also biologische Spezialisierungen auf Sellerie und auf Petersilie. Die Form an Petersilie ist auf glattblättrige Sorten beschränkt.

Literatur.

Blumer, S., Die Erysiphaceen Mitteleuropas. Zürich 1933. — Hegi, J., Illustrierte Flora von Mitteleuropa. München. Bd. 5. 2. — Jaczewski, A., Taschenbuch zum Bestimmen der Pilze. 2. Teil: Mehltaupilze. Leningrad 1927. (Russ.)

Referate.

Bücher, Institutsberichte usw.

Ursprung, A., Die Messung der osmotischen Zustandsgrößen pflanzlicher Zellen und Gewebe. In: Abderhalden, Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden. Abt. XI. Chemische, physikalische und physikalisch-chemische Methoden zur Untersuchung des Bodens und der Pflanze. Teil 4. Heft 7. 1938.

Verf. gibt uns in Abderhaldens Handbuch eine zusammenfassende Darstellung unserer Kenntnisse von den osmotischen Zustandsgrößen. Ausgehend von den einfachsten Begriffen legt Verf. zunächst rein terminologisch jene Ausdrücke klar, die heute unter dem Begriff der osmotischen Zustandsgrößen verstanden werden, und grenzt sie so gegen mehr oder weniger undurchsichtige frühere Definitionen ab. In einem eigenen Kapitel, das trotz seiner prägnanten Kürze an Klarheit nicht übertroffen werden kann, geht Verf. näher auf die physiologische Bedeutung der besprochenen Begriffe ein. Einen besonderen Abschnitt widmet er den Methoden zur Messung des Grenzplasmolyse-Wertes. Die hier behandelte Fülle von Einzelfragen kann ihrer Mannigfaltigkeit wegen nur angedeutet werden. Nachdem Verf. die verschiedenen Plasmolytika einzeln kritisch beleuchtet und gegeneinander abgewogen hat, kommt er auf die Herstellung der Lösungen zu sprechen. Es folgen genaue Angaben über Konzentrationsverhältnisse und Umrechnungen der verschiedenen Konzentrationen. Erfreulicherweise legt Verf. besonderen Wert darauf, auf die Fehlerquellen hinzuweisen, die gerade bei derartigen Untersuchungen von Bedeutung sind. In didaktischer Folgerichtigkeit wird dann die Frage nach der Bestimmung der zum Grenzplasmolyse-Wert gehörigen Saugkraft aufgeworfen. Besonders für physikalisch-chemisch durchgebildete Biologen werden diese Fragen von Interesse sein. In gleicher Weise geht Verf. an die Besprechung der Grundlagen zur Untersuchung des osmotischen Wertes und der Saugkraft im normalen Zustand der Zelle heran. Auch in diesem Kapitel finden sich wieder Hinweise auf evtl. Fehlerquellen. Es folgen Ausführungen über die Begründung der Versuchstechnik, die für ein planmäßiges Weiterforschen von Wichtigkeit ist. In den anschließenden Kapiteln über die Methoden zur Messung der Saugkraft ganzer Wurzeln und Sprosse, der Saugkraft toter Zellen und die Methode zur Messung polarer Saugkraftdifferenzen diskutiert Verf. auch auf wenigen Seiten die Methoden zur Saugkraftbestimmung, die besonders in landwirtschaftlichen Kreisen im Gebrauch sind. Wenn dann noch näher eingegangen wird auf die Messung des Wasser-

sättigungsdefizits und der Wasserbilanz der Pflanzen, auf die Messung der Wanddehnung, des Wand- und Turgordruckes bei Einzelzellen, und in den Schlußkapiteln die methodischen Grundlagen zur Messung des Widerstandes, den das Substrat der Wasseraufnahme durch die Pflanze entgegensetzt, klargestellt werden, so ist damit nur der Umriß gekennzeichnet, der die inhaltsreiche Arbeit des Verf. bestimmt. Den aufschlußreichen Ausführungen folgt eine ausführliche Literaturzusammenstellung. Kersting (Berlin).

Kuntze, A. H., Literatur über tropische Nutzpflanzen und deren Krankheiten und Schädlinge. (Mitt. Biol. Reichsanst. f. Land- u. Forstwirtschaft. Heft 56. April 1938.)

Verf. hat unter der bewährten Leitung von H. Morstatt aus der umfangreichen Literatur über die Tropenkulturen die für Wissenschaft und Wirtschaft wesentliche ausgewählt und in jedem Falle, in dem die Titel nicht ausreichend auf den Inhalt schließen lassen, das Literaturzitat durch kurze erläutende Anmerkungen ergänzt.

Außer der „allgemeinen Literatur über tropische Nutzpflanzen", unter der auch die Nachschlagewerke sowie die Veröffentlichungen über Gartenbau, Düngung u. a. aufgeführt sind, wird vor allem die spezielle Literatur über Einzelkulturen wie Stärke-, Zucker-, Öl-, Gemüse-, Faser-, Kautschuk- und Fruchtpflanzen und auch Nutzhölzer berücksichtigt, während im Anhang einschlägige floristische Werke und Zeitschriften genannt sind.

Dem 32 Seiten umfassenden Heftchen kann eine rege Nachfrage vorausgesagt werden. Stapp.

Chitwood, B. G. und **Chitwood, M. B.,** An Introduction to Nematology. Washington 1937/38. Im Selbstverlag erschienen. Vertrieb durch Monumental Printing Co. 3110 Elm Avenue, Baltimore. Md. Preis der Lieferungen I u. II zusammen $ 5.50.

Die Nematodenforschung hat im letzten Jahrzehnt einen erheblichen Aufschwung genommen. Die zahlreichen Einzelbeobachtungen fanden ihren Niederschlag in zusammenfassenden Schriften, welche die Nematoden jeweils vom medizinischen, wirtschaftlichen oder rein taxonomischen Standpunkt aus behandelten. Es fehlte aber bisher noch eine vergleichend zoologische Bearbeitung dieses jungen Forschungszweiges. Die Verff. haben es unternommen, die Lücke zu schließen. Wie aus dem Vorwort hervorgeht, besteht das Werk aus 3 Abteilungen: Anatomie, Ontogenie und Systematik. Es erscheint in 10 Lieferungen, von denen bisher zwei vorliegen. Die erste Lieferung (53 S., 53 Abb.) enthält in 4 Kapiteln neben einer allgemeinen Übersicht über Vorkommen und Lebensweise der Fadenwürmer eine kurze Darstellung der Geschichte der Nematologie. In den folgenden Abschnitten werden der allgemeine Bauplan der Nematoden, Kutikula, Hypodermis Muskulatur, Leibeshöhle und Anhangsorgane besprochen. Hieran schließt sich eine mehr skizzenhaft gehaltene Klassifizierung der Nematoden. Die zweite Lieferung (68 S., 110 Abb.) behandelt in vier weiteren Kapiteln die Struktur des Kopfes mit den dazu gehörenden Papillen sowie das gesamte Verdauungssystem. Jedes Kapitel bringt zunächst einen allgemeinen Überblick und geht dann auf die spezifischen Verhältnisse ein, wobei jede Nematodengruppe in übersichtlicher Form abgehandelt wird. Den Beschluß eines Abschnittes bildet stets ein besonderes Schriftenverzeichnis. Die zahlreichen guten Abbildungen, die zur Erklärung der fast verwirrend wirkenden

Einzelheiten unerläßlich sind, tragen zur Belebung des Textes bei und erläutern diesen zugleich in anschaulicher Form. Das Buch stellt aber nicht nur eine Zusammenfassung bekannter Ergebnisse dar, was an sich schon dankenswert wäre, sondern läßt darüber hinaus auch eigene Ansichten zu Worte kommen. Wenn es auch in erster Linie für den Zoologen geschrieben ist, so findet doch auch der Mediziner und Parasitologe alles Wissenswerte übersichtlich hier zusammengefaßt, was bisher von zoologischer Seite auf dem Gebiete der Nematologie erarbeitet worden ist. Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virusuntersuchungen.

Tanaka, K., Zur Physiologie der Essigbakterien. III. Vergleichende Untersuchungen über die oxydativen Leistungen von Essigbakterien. IV. Über den Einfluß der verschiedenen Giftstoffe auf die oxydativen Umsetzungen der Essigbakterien. V. Über die Oxydierbarkeit von verschiedenen Alkoholen und Aldehyden. (J. Sci. Hirosh. Univ. Ser. B. Div. 2. Bd. 3. 1938. S. 69—164.)

Es wurden folgende Essigbakterien auf ihr Oxydationsvermögen bei einer Reihe von organischen Stoffen untersucht: Acetobacter aceti, A. ascendens, A. Pasteurianum, A. peroxydans, A. rancens, A. xylinum var. muciparum, A. zythi, A. suboxydans, Bact. aceti. Als Substrat dienten folgende Verbindungen und deren Homologe: Ameisensäure, Oxalsäure, Glykolsäure, ungesättigte Säuren, Zucker, Aminosäure, Amide, Ketone usw. Je nach dem Grad ihrer Oxydierbarkeit durch die Essigbakterien unterscheidet Verf. 4 Gruppen. Zur 1. gehören Äthylalkohol und Azetaldehyd, auf diesen Substraten nehmen die Bakterien 200—1000 cmm O_2/h und mg Bakterien auf. In der 2. Gruppe stehen Ameisen-, Essig-, Bernstein-, Äpfel-, Brenztrauben-, Milchsäure, ferner Glyzerin, sein Aldehyd, Glukose; die O_2-Aufnahme betrug 10—100 cmm. Zur 3. Gruppe werden Glukon-, Glyzerin-, Malein-, Malon-, Asparagin-, Glutamin-, Zitronen-, Aconitsäuren, Mannit gerechnet, aufgenommen wurden nur 1—10 cmm O_2 und weniger. Schließlich 4. Verbindungen, auf denen die Bakterien keine Aufnahme mehr bewerkstelligen, wie Propion-, Butter-, Valerian-, Oxal-, Glykol-, Schleim-, Wein-, Harn-, Benzoe-, Phenylessig-, Salicylsäure, Glykokoll, Hypoxanthin, Xanthin. Verf. fand, daß die in dem Thunberg-Wielandschen Atmungsschema angenommenen Säuren (Essig-, Fumar-, Äpfel-, Bernstein-, Brenztraubensäure) in gleichen Zeiten oxydiert werden. Zur Untersuchung des Einflusses von Atmungsgiften in verschiedenen Substraten wurde fast ausschließlich B. aceti (für Ameisensäure noch A. rancens) verwandt. Solche Gifte waren As_2O_3, $NaHSO_3$, NH_2OH, Salze von Cu, Ag, Au, Hg, Zn; NaF, 8-oxychinolinsulfosäure, Narkotika, Toluol. Schließlich wurde noch die gegenseitige Beeinflussung verschiedener Säuren nebeneinander geprüft, z. B. Oxalsäure in Essigsäure als Substrat. Die Atmungshemmung durch die Schwermetallsalze war verschiedengrädig. As_2O_3 hemmte die Oxydation der Säuren des Thunbergschen Schemas, dagegen nicht diejenige von Alkohol, Aldehyd, Glukose, Oxalsäure. Toluolbehandlung verkleinerte den Respirationsquotienten bei Äpfel-, Fumar-, Milchsäure. Zugabe von HCN zu toluolbehandelten Bakterien hob die Hemmung teilweise wieder auf. Narkotika wie Veronal, Luminal, Äthylurethan

störten die Oxydation nicht. Mit A. peroxydans, A. rancens, B. aceti wurde das Oxydationsvermögen einer Reihe aliphatischer wie aromatischer Alkohole untersucht, mit dem Erfolge, daß der Spezifitätsbereich der Alkohol- bzw. Aldehyddehydrasen erheblich weiter geht als zur Zeit in der Literatur angegeben. Dabei zeigte sich die Reaktionsgeschwindigkeit weitgehend abhängig von der Konstitution. — Die zahlreichen Einzelheiten müssen der Originalarbeit entnommen werden.

Skallau (Berlin).

Clifton, Ch. E., On the possibility of priventing assimilation in respiring cells. (Enzymologia. Vol. 4. 1937. p. 246—253.)

Die Oxydation von Essigsäure und Buttersäure durch Pseudomonas calcoacetica ist so aufzufassen, daß neben Kohlensäure und Wasser noch ein Kohlehydrat gebildet, d. h., daß dieses als Assimilat gespeichert wird. Durch Verwendung gewisser Gifte in bestimmten Konzentrationen ist es jedoch möglich, diese Assimilation vollständig zu unterbinden, während die Atmung und die Verbrennung des Substrates noch weiterlaufen. Aus der Tatsache, daß nicht nur die Assimilation, sondern auch die Atmung, allerdings sehr viel schwächer, durch das gleiche Gift gehemmt wird, ist zu entnehmen, daß beide Vorgänge innig miteinander verknüpft sind. Wenn die Atmung allein untersucht werden soll, muß die kritische Konzentration des Giftes angewandt werden, bei der die Assimilation vollständig unterbunden, die Atmung jedoch möglichst wenig gehemmt ist. Bact. coli verhält sich ähnlich wie das obengenannte Bakterium, Spirillum serpens jedoch, das weniger Sauerstoff verbraucht und mehr Kohlenstoff je Molekül verbrauchten Substrats assimiliert, verhält sich gegenüber den assimilationshemmenden Giften anders. Atmung und Assimilation werden bei diesem Bakterium annähernd gleichmäßig gehemmt, so daß sie sich auf diesem Wege nicht trennen lassen.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Schouwenburg, K. L. van, On respiration and light emission in luminous bacteria. (Dissertation Delft. 1938. 94 Seiten.)

Die Lichtproduktion der Leuchtbakterien beruht auf einer oxydativen Reaktion, an der drei Komponenten, Luziferin, Luziferase und molekularer Sauerstoff, beteiligt sind. Sie ist daher als Teilprozeß der Atmung der leuchtenden Bakterienzelle zu betrachten. Der Zusatz von Cyanid zu einer Leuchtbakteriensuspension bei vermindertem O_2-Druck stimuliert die Lichtproduktion. Daraus ergibt sich, daß die lichtbildende Reaktion von der Häminatmung (Warburg) verschieden ist. Die Tatsache, daß das Maximum der Lichtproduktion bei niedrigeren O_2-Drucken erhalten bleibt als das der Gesamtatmung, zeigt, daß das beteiligte Enzym eine größere Affinität zu Sauerstoff hat als das Warburgsche Enzym. Die Cyanidempfindlichkeit der Gesamtatmung und in stärkerem Maße des Leuchtprozesses steigen mit zunehmendem O_2-Druck. Zusatz von Äthylurethan wirkt sich in einer starken Abnahme der Lichtintensität und in einer geringen Verminderung der Gesamtatmung aus. Aus den Ergebnissen von Versuchen mit Kombinationen von Cyanid und Äthylurethan geht hervor, daß letzteres nicht die „Leuchtatmung" sondern den Leuchtprozeß selbst hemmt. Auf Grund von Literaturstudien und der eigenen Versuche kommt Verf. zu folgender Hypothese über den Mechanismus des Leuchtprozesses. Ein kleiner Teil des Redoxsystems des Luziferins, welches normalerweise durch Sauerstoff direkt oder durch

das Häminsystem reversibel oxydiert wird, unterliegt beim Leuchten einem irreversiblen, lichtproduzierenden Oxydationsprozeß unter Mitwirkung des Enzyms Luziferase. C. R. Baier (Kiel-Kitzeberg).

Imsenecki, A., and Solnitzeva, L., On aerobic cellulose decomposing bacteria. (Bull. Acad. Sci. de l'URSS. Classe des sci. mathem. et nat. 1936. p. 1115—1172.) [Russ. m. engl. Zus.]

Auf Kieselgelplatten mit Filtrierpapier wurden zellulosezersetzende Mikroorganismen angereichert, unter denen sich Vertreter der Myxobakterien wie der Gattung Cellvibrio befanden. Ihre Morphologie, Entwicklung und systematische Stellung werden eingehend beschrieben und die physiologischen Eigenschaften und biochemischen Leistungen verschiedener Arten miteinander verglichen. Die Zerstörung der Zellulose durch Cellvibrio verläuft schneller, ist jedoch nicht so tiefgreifend wie die durch Cytophaga. Im ersteren Falle werden die Fasern nicht vollständig aufgelöst, im letzteren dagegen bleibt nichts übrig als der Mikroorganismenschleim, der nicht als Spaltprodukt der Zellulose aufzufassen ist, sondern als synthetisches Produkt der Cytophaga-Zellen. Die Arten dieser Gattung sollen weniger streng aerob sein als die Cellvibrionen. Die Beschreibung des Lebenskreislaufes, der Zystenbildung und Zystenkeimung sowie die Untersuchungen über die symbiontische Rolle der Begleitbakterien in Cytophaga-Kulturen bestätigen die Feststellungen von Stapp und Bortels und anderen Autoren. Das gleiche gilt für die Beschreibung der ernährungsphysiologischen Leistungen dieser Spezialisten, unter denen auch ein neue Art erwähnt wird, Polyangium cellulosum.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Kligler, I. J., and Guggenheim, K., The influence of vitamin C on the growth of anaerobes in the presence of air, with special reference to the relative significance of EH and O_2 in the growth of anaerobes. (Journ. Bact. Vol. 35. 1938. p. 141—156.)

Versuche über die Wirkung von Ascorbinsäure auf das Wachstum von Clostridium welchii bei Gegenwart von Luftsauerstoff haben gezeigt, daß dieses anaerobe Bakterium sehr gut bei Luftzutritt gedeiht, wenn das Redoxpotential des Nährbodens genügend tief gehalten wird, was sich durch Zugabe geringer Mengen Ascorbinsäure erreichen läßt, die für die Anaeroben als Katalysator wirkt, ohne den Sauerstoffdruck zu verändern. Bei größeren Peptonkonzentrationen ist die erforderliche Vitaminkonzentration kleiner als bei niedrigeren Peptonkonzentrationen, weil das Pepton selbst das Potential in der Nährlösung herabsetzt. Glukose ist ohne Einfluß. Steigt das Redoxpotential des Nährbodens über den kritischen Punkt, dann beginnt der Luftsauerstoff in die Oxydoreduktionsvorgänge der Zelle einzugreifen und macht so eine Entwicklung der Bakterien unmöglich.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Lipman, C. B., Tolerance of liquid air temperatures by spore-free and very young cultures of fungi and bacteria growing on agar media. (Bull. Tor. Bot. Club. Vol. 64. 1937. p. 537—546.)

In 2 Versuchsreihen hat Verf. Bakterien und Pilze 2 Tage lang der Temperatur der flüssigen Luft (— 190° C) ausgesetzt. Unter den Bakterien waren vertreten: Erwinia amylovora, E. carotovora, Azo-

tobacter chroococcum, M. tuberculosis, Clostridium botulinum, unter den Pilzen Arten von: Aspergillus, Penicillium, Rhizopus, Mucor, Absidia, Mortierella, Rhizoctonia, Armillaria, Trichoderma, Pythium, Fusarium. Alle Kulturen waren ein oder zwei Tage alt und wuchsen auf Fleischbrühe- oder Kartoffel-(Zucker-)agar. Besonderer Wert wurde auf sporenfreie Kulturen gelegt. 8 von 12 gewählten Pilzarten und fast alle Bakterien vertrugen diese Behandlung und zeigten nach vorsichtigem Auftauen meist makroskopisch sichtbares Wachstum. Damit wurden ähnliche Erfahrungen von Kärcher, Mcfadyen, Zirpolo bestätigt. Für diese auffällige Erscheinung gibt Verf. eine hypothetische Erklärung. Die Zwischenräume zwischen den kolloidalen Mizellen des Protoplasmas der Organismen sind so winzig klein, daß eine Dehydratation durch Eisbildung nicht mehr stattfinden kann. Infolge dieser kleinen Zwischenräume ist auch die Adhäsionskraft des Plasmas zum Wasser größer als die Kohäsionskraft der Wassermoleküle bei fallender Temperatur und die Kräfte, welche die Wassermoleküle zur Eiskristallbildung zu richten versuchen. Bei trocknem Pflanzenmaterial wie Sporen, Samen, auch Moosen besteht von vornherein nicht die Gefahr des Auseinandersprengens des Molekülverbandes durch intermizellare Eisbildung. In den vorliegenden Versuchen erwiesen sich die Bakterien durchweg widerstandsfähiger als die Pilze.

Skallau (Berlin).

Mothes, K., Neuere Untersuchungen auf dem Gebiete des Eiweißstoffwechsels. (Forschungsdienst. Bd. 5. 1938. S. 219—224.)

Den Bakteriologen interessiert besonders der Abschnitt über die Leguminosensymbiose. Diese ist im Grunde genommen immer noch ungeklärt. Für die N-Bindung können die Bakterien in den Knöllchen in Frage kommen, ferner die Wurzelzellen der Leguminosen (unter dem Einfluß der Bakterien) oder auch beide im Gefolge einer chemischen Wechselwirkung. Auffällig ist die Tatsache, daß Bact. radicicola in künstlichen Nährlösungen N nicht bindet. Hieran knüpft Verf. seine gemeinsam mit Pietz durchgeführten Untersuchungen. Der Zellsaft der Wurzelrindenzellen von Vicia Faba ist stark sauer, $p_H = 3{,}5$, im Gegensatz zu demjenigen der infizierten Gewebe, $p_H = 6$. Das Bakteriengewebe besitzt ein Redoxpotential von $rh < 15$, das im N-Strom bis auf $rh < 7$ sinkt, sein Oxydationspotential ist höher als das der umgebenden Zellen, es sinkt beim Absterben unter das der letztgenannten. Die Bedingungen für die Kultur der Knöllchenbakterien sind denen der natürlichen Verhältnisse durchaus ähnlich: optimaler p_H-Wert ist 6, schlechtes Wachstum bei rh unter 15, im N-Strom sinkt rh auf 4, bei Belüftung steigt es auf 22—24. Nun besitzen die Leguminosen den sog. „roten Körper", der ein Oxydationsprodukt des Dioxyphenylalanins ist, in der aktiven Zelle als Leukobase vorliegt. Bei Gegenwart dieses Stoffes wachsen die Bakterien besser als in O_2 oder in der Anaerobiose bei Vorhandensein von reduziertem Dopa. Verf. betrachtet diese Verbindung als ausschlaggebend für die Existenz der Knöllchenbakterien, wobei er noch unentschieden läßt, ob die Entwicklung oder die Einstellung des erforderlichen Redoxpotentiales durch ihn erst möglich ist. In der Oxybiose wird er von den Bakterien zu Melanin umgewandelt. Hierin erblickt Verf. „ein wesentliches Moment der spezifischen Leguminosensymbiose". Es bedarf weiterer Versuche zur Klärung der Frage, ob die gemachten Beobachtungen auf andere Leguminosen übertragen werden dürfen. Skallau (Berlin).

Batschinskaja, A. A. und Petrosjan, A. P., Über die Beziehungen zwischen Azotobacter chroococcum und Aktinomyceten. (Mikrobiologie. Bd. 6. Folge 7. 1937. S. 868—875.) [Russisch.]

Die Untersuchung erstreckte sich auf Azot. chroococcum Beij., Stamm A und auf 5 Aktinomyceten-Stämme (Act. longisporus ruber Krassil'nikow, Act. coelicolor Müller, Act. violaceus Gasperini, Act. flavus Krainskij und farbloser Abtimys albus). Es wurde festgestellt, daß bei der Symbiose der beiden Arten auf verschiedenen Substraten ihr Wachstum, sowie die Struktur der Zellen und Pigmentbildung in verschiedenem Grade gegenseitig beeinflußt werden. Auf festem Substrat von Ashby mit 1% Mannit wächst und pigmentiert sich Azot. chroococcum schneller, Aktinomyceten bleiben dagegen längere Zeit in jungem Entwicklungsstadium und bilden Pigment und Sporen viel später. Die hellpigmentierten Aktinomyceten (gelb, rosa und ohne Pigment) fördern in festen und flüssigen Substraten mit Bodenauszug das Wachstum des Azot. chroococcum, die dunkel pigmentierten (violett und blau) hemmen das letztere. Auf dem Nährboden von Ashby wird das Wachstum des Azot. chroococcum durch die dunkel pigmentierten Aktinomyceten nicht gehemmt. Azot. chroococcum entwickelt sich gut in Filtraten der Substrate von Aktinomyceten, wenn in diesen die Konzentration der Stoffwechselprodukte hell pigmentierter Aktinomyceten hoch, und die dunkel pigmentierter niedrig ist. M. Gordienko (Berlin).

Reichel, L., Über den Mechanismus der Synthese von Fett und Fettsäuren durch den Hefepilz Endomyces vernalis. (Ztschr. f. angew. Chemie. Bd. 51. 1938. S. 190.)

Fettfreie Kulturen des Pilzes lieferten mit Lösungen von Glukose, Fruktose und Rohrzucker neben Fett (7—12%) stets freie Fettsäuren (5—8%). Fruktose erwies sich als besonders guter Fettbildner. Bilanzversuche mit Glukose und Fruktose ergaben, daß nur etwa der vierte Teil des verbrauchten Zuckers der Bildung von Fett bzw. Fettsäuren zugute kommt. Zur Gewinnung von Anhaltspunkten über den Verlauf der Synthese höherer Fettsäuren wurde die Assimilierbarkeit von höheren gesättigten und ungesättigten Aldehyden untersucht, die in Form ihrer Bisulfitverbindungen zur Anwendung kamen. Gesättigte Aldehyde wurden lediglich zu den entsprechenden Säuren oxydiert, ungesättigte dagegen wurden in höhere Fettsäuren umgewandelt. Der Befund von Haehn und Kinttof, nach dem aus Glyzerin Fett gebildet werden soll, konnte nicht bestätigt werden. Fett neben Fettsäure wurde jedoch im Gemisch mit Glyzerin erhalten mit Azetaldehyd, Krotonaldehyd, Hexadienal und Oktatrienal. Auf Grund der gewonnenen Erkenntnisse wurde eine chemische Formulierung des Mechanismus der Fettsäurebildung aufgestellt. Heuß (Berlin).

Hartelius, V., Untersuchungen über die Stickstoffassimiliation der Hefe. XI. Der Einfluß der Bios-Wuchsstoffe und der Stoffwechselprodukte der Hefe auf Stickstoffaufnahme und -ausscheidung der Hefe. (C. R. Lab. Carlsb. Sér. physiol. Bd. 22. 1938. S. 211—234.)

Folgende Mengen an Bierwürze wurden einem synthetischen Nährboden zugesetzt: $^1/_{32}$, $^1/_{16}$, $^1/_8$, $^1/_4$, $^1/_2$, 1, 2 und 5%. Die N-Aufnahme der Hefe

zeigte bei den verschiedenen Zusätzen ziemlich gleichbleibende Werte, dagegen sank die Ausscheidung beträchtlich mit zunehmendem Würzegehalt. Gleichsinnige Ergebnisse wurden erhalten, wenn Verf. Bios in Form von wuchsstoffreicher Hefe einführte. Daraus wird geschlossen, daß die N-Abgabe ins umgebende Medium durch die „Bios-Wuchsstoffe" geregelt wird. Gleichzeitig wurden frühere Ergebnisse bestätigt, nach denen die N-Aufnahme und -Abgabe bei kräftigstem Wachstum am größten ist. Die Abmessungen der zum Versuch verwendeten Apparate, insbesondere das Verhältnis von Oberfläche zu Schichthöhe spielten bei der Aufnahme keine Rolle, bei der Abgabe war die Wirkung unsicher, vielleicht werden in flachen Kulturgefäßen die N-Ausscheidungen etwas geringer. Im Verlaufe des Wachstums sinkt die N-Abgabe, andererseits sinkt die Wuchsstoffkonzentration, dieser letzte Effekt sollte jedoch eine Erhöhung der N-Ausscheidung bewirken. Das gegensinnige Ergebnis erklärt Verf. durch die allmähliche Ansammlung von Säure in der Kulturflüssigkeit, diese Verschiebung des p_H nach der sauren Seite bedingt ein Aufhören des Wachstums, alte Zellen überwiegen also langsam, somit geht die N-Abgabe zurück. Künstliche Zusätze von Säure erhärteten die Annahme. Geringe Alkoholbeigaben förderten die Ausscheidung etwas. Skallau (Berlin).

Waksman, S. A., and Hutchings, I. J., Lactic acid production by species of Rhizopus. (Journ. of the Americ. Chem. Soc. Vol. 59. 1937. p. 545—547.)

Zwei aus Kompost und aus Erde isolierte Rhizopus-Arten zeigten die Fähigkeit zur Bildung von Milchsäure aus Glukose, Stärke und Inulin. Stärke wurde zuerst in Zucker und dann in Milchsäure umgewandelt. Wenn die Bedingungen zur Säurebildung ungünstig waren, etwa beim Fehlen neutralisierender Substanzen oder bei ungünstiger Temperatur, wurde Zucker als Intermediärprodukt angehäuft. Die Milchsäurebildung aus Inulin verlief nur sehr langsam, weil die Pilze wenig Inulase bilden.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Mikrobiologie der Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel.

Michaelian, M. B., Hoecker, W. H., and Hammer, B. W., Effect of pH on the production of acetylmethyl-carbinol plus diacetyl in milk by the citric acid fermenting streptococci. (Journ. of Dairy Sci. Vol. 21. 1938. p. 213—218.)

Es wurde untersucht, welche Beziehungen zwischen den durch verschiedene Säuren verursachten p_H-Werten und der Erzeugung von Azetylmethylkarbinol + Diazetyl (A + D) in Milchkulturen von Zitronensäure-vergärenden Streptokokken bestehen. Die verwendeten Säuren waren folgende: Zitronensäure, Milchsäure, Schwefelsäure sowie 0,15proz. Milchsäure + soviel Schwefelsäure, als zur Herstellung des gewünschten p_H notwendig war. Ergebnisse: Die Zitronensäure gab zur kräftigsten A + D-Bildung Veranlassung. Auch ging die Bildung innerhalb eines weiten p_H-Bereichs vor sich (maximale Ernte bei p_H-Werten von 3,7—3,9). Bei der Ansäuerung mit Milchsäure konnten nur verhältnismäßig niedrige Werte an A + D beobachtet werden. Auch war die p_H-Zone ziemlich eng (maximale Ernte bei p_H-Werten von 4,1—4,4). Da aber andererseits die Milchsäure der für die Säuerung von Butterungskulturen maßgebendste Faktor ist, dürfte die Ursache der häufig schwa-

chen Bildung von A + D in solchen Kulturen auf den verhältnismäßig ungünstigen Charakter der Milchsäure zurückzuführen sein. Diesbezüglich wurden mit Schwefelsäure bessere Ergebnisse erzielt. Auch war der günstige p_H-Bereich ein breiterer (maximale Ernte jedoch bei verhältnismäßig niedrigen Werten, nämlich zwischen p_H 3,2 und 3,6). Die im Vergleich zur Milchsäure bessere Eignung der Schwefelsäure zur A + D-Bildung mag eine Erklärung dafür sein, warum bei Butterkulturen nach Ansäuerung mit Zitronensäure + Schwefelsäure sehr günstige Ergebnisse erhalten werden. Ein Gemisch von 0,15% Milchsäure mit wechselnden Mengen Schwefelsäure (je nach p_H-Bedarf) ergab A + D-Ernten, die denjenigen mit Schwefelsäure allein gleich waren, wobei aber das Optimum günstiger lag (p_H 3,5—3,9).

K. J. Demeter (München-Weihenstephan).

Davis, J. G., Induced O/R Potentials, rates of growth and the volatile acid production of lactic acid bacteria in milk. (Journ. of Dairy Res. Vol. 9. 1938. p. 85—94.)

Verf. hat 46 Streptokokken und 49 Laktobazillen auf ihr Reduktionsvermögen gegenüber 5 O/R-Indikatoren in Magermilch geprüft. Der Farbstoffgehalt der Milch betrug: Methylenblau 1 : 20 000, Janusgrün 1 : 20 000, Lackmus 1 : 10 000, Neutralrot 1 : 20 000, Safranin 1 : 50 000. Die einzelnen Röhrchen wurden je nach der Art des zu untersuchenden Stammes bei 22, 30, 37 oder 45° bebrütet. In Parallelserien wurden der Magermilch außerdem 5% Hefeautolysat und 1% Glukose zugesetzt. Bei 29 Stämmen wurde nach 12—24 Monaten die Menge der gebildeten flüchtigen Säuren ermittelt. Nach den Untersuchungsergebnissen haben Methylenblau, Lackmus und Safranin eine gewisse diagnostische Bedeutung für die Unterscheidung einzelner Stämme. Ein deutlicher Zusammenhang zwischen Wachstumsgeschwindigkeit in Milch, Reduktionsvermögen und der Menge der gebildeten Nebenprodukte war festzustellen. Diese Zusammenhänge bestanden nicht nur für verschiedene Gruppen und Typen, sondern auch für die kleinen Variationen, wie sie sich bei der Züchtung im Laboratorium ergaben. Verf. schließt daraus, daß die Wachstumsgeschwindigkeit in einem fundamentalen Zusammenhang steht mit der gebildeten Menge von Nebenprodukten und diese vermutlich mit aromabildenden Stoffen, wie Diazetyl und Essigsäure. Daher dürfte die angestrebte Zurückdämmung des Wachstums gewisser Mikroorganismen in der Käserei ebenso wichtig sein wie die Anwesenheit spezifischer Stämme.

A. Janoschek (Weihenstephan).

Guittonneau, G., Mocquot, G., et Eyrard, A., Recherches sur la pasteurisation des laits de consommation. — Premier mémoire: Choix d'un milieu de culture pour la numération des germes microbiens. (Le Lait. T. 18. 1938. p. 225—233.)

Die Untersuchung bezweckte die Feststellung der Brauchbarkeit eines von Guittonneau, Sajous und de Peet ausgearbeiteten und von Verff. vereinfachten Nährbodens aus trypsinverdauter Magermilch (3 Tage Verdauung der Magermilch bei 37°, Verdünnung auf die 3fache Menge). Als Vergleichsnährböden dienten 1. der Nährboden nach Bowers und Hucker (in Pulverform unter der Bezeichnung „Difco" im Handel) mit folgender Zusammensetzung: Bacto-Trypton 5 g, Bacto-Traubenzucker 1 g, Bacto-Agar 15 g, Magermilch 5 ccm. Wasser 1000 ccm: 2. der in Deutschland

für Milchkeimzahl-Bestimmungen übliche Milchzucker-Standard-Agar nach Demeter. Vergleichende Keimzahlbestimmungen in roher sowie pasteurisierter Milch ergaben die Gleichwertigkeit der 3 geprüften Nährmedien.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Frank, L. C., Moss, F. J., Fuchs, A. W., Haskell, W. H., Miller, M. M., Thomas, R. C., and Havens, M. K., Studies of the bactericidal treatment of milk cans in hot-air cabinets. (Publ. Health Rep. Vol. 53. 1938. p. 329—338.)

In der letzten Zeit hat sich in der amerikanischen Milchwirtschaft immer mehr die Sitte eingebürgert, zur Entkeimung von Milchgeräten, insbesonders Milchkannen, Heißluft-Sterilisatoren zu benutzen. Aus diesem Grunde erschien es den Verff. zweckmäßig nachzuprüfen, welches die Bedingungen sind, unter denen die für die Milch in Frage kommenden pathogenen Bakterien sicher abgetötet werden. Als Testorganismus diente ein resistenter Colistamm, mit dem die vorher sauber gereinigten und sterilisierten Milchkannen massenhaft infiziert wurden. Zum Zwecke der Prüfung wurden die infizierten Kannen in noch feuchtem Zustande mit dem Hals nach unten in den Sterilisator gestellt und bei Temperaturen von durchschnittlich 68,2, 73,1, 78,5 und 85° C erhitzt. Die Zeit, die benötigt war, um den Heizraum auf die Prüfungstemperatur zu bringen, variierte von 26—39 Min. Die maximale Abweichung von der mittleren Temperatur bei Beginn der Halteperiode variierte von etwa 1—15° C. Die bakteriologische Wirkung war folgende: Wenn die Halteperiode 10 Min. und die Abkühlungszeit 30 Min. betrug, konnte bei einer Temperatur von rund 73,3° C eine Abtötung von 99,99% der in den Kannen vorhanden gewesenen Colikeime erzielt werden. Dies entspricht einer Reduktion, wie sie bei diesem Organismus normalerweise bei einer Phosphatpufferlösung von p_H 7,2 während 33 Min. bei 60° C eintritt. Unter Einbeziehung einer gewissen Sicherheitsgrenze (von 8,9° C und 10 Min.) ist zu verlangen, daß bei der Trockensterilisation von Milchkannen die Halteperiode mindestens 20 Min. bei 82,2° C (gemessen am kältesten Punkt) betragen soll.

K. J. Demeter (München-Weihenstephan).

Powell, M. E., Flavor and bacterial changes occurring during storage of sweet cream which has been flash pasteurized at various temperatures. (Journ. of Dairy Sci. Vol. 21. 1938. p. 219—226.)

Es sollten gegebenenfalls Beziehungen zwischen dem endgültigen Rahm-Aroma und der Art der die Erhitzung überlebenden Mikroorganismen aufgedeckt werden. Die Rahmproben wurden z. T. in einem betriebsmäßigen Momenterhitzer erhitzt, z. T. in einem von dem Autor früher beschriebenen Laboratoriums-Erhitzer. Die angewendeten Temperaturen waren 85, 79,4, 73,8 und 68,3° C, die Durchflußzeit betrug ungefähr 30—45 Sek. Ergebnisse: Die Anzahl der in Süßrahm vorhandenen Bakterien geht in umgekehrtem Verhältnis zur Höhe der angewendeten Erhitzungstemperatur zurück. Das Organismenwachstum während Aufbewahrung bei +1,7° C ist rascher im Rohrahm als im erhitzten Rahm. Im frischen Rohrahm überwiegen die starken Säurebildner, die erst allmählich durch die langsamer wachsenden Eiweißzersetzer und die schwachen Säurebildner verdrängt werden. In den pasteurisierten Rahmproben nimmt der Prozentsatz der überlebenden Eiweißzersetzer im selben Maße zu als die Temperatur erhöht wird. Sie überwiegen vollständig in Rahmproben,

die über 73,8° C erhitzt worden sind. Da zwischen den vorhandenen Prozentsätzen der physiologischen Bakteriengruppen und dem Charakter des in verschiedenen Proben vorhandenen Aromas keine engeren Beziehungen aufzufinden waren, scheinen andere biologische Faktoren ebenfalls eine wichtige Rolle zu spielen. Ganz auffallend bitterer Geschmack wurde in manchen rohen Rahmproben unmittelbar nach 10tägiger Aufbewahrung bei +1,7° C festgestellt. Durch Momenterhitzung bei 73,8° C konnte die Bildung dieses Geschmacksfehlers verhindert werden. Im späten Frühjahr und während der Sommermonate ließ sich durch Momenterhitzung bei 68,3° C sehr feiner Rahm erzeugen, der ohne Veränderung im Geschmack und Geruch 10 Tage bei +1,7° C aufbewahrt werden konnte, während eine Momenterhitzung auf 73,8° C bereits unangenehmen Kochgeschmack zur Folge hatte.

K. J. Demeter (München-Weihenstephan).

Helm, R., Der gelbe Galt und Versuche zur Heilung mit Entozon-Infusionen. (Arbeiten aus d. Reichsgesundheitsamte. Bd. 72. 1937. S. 245—262.)

Versuche, die die Behandlung des gelben Galtes zum Gegenstand hatten, haben ergeben, daß eine Heilung bei anscheinend chronisch kranken Tieren nur in ganz wenig Fällen gelingt. Sehr häufig traten nach der Behandlung Streptokokken in Euterviertel auf, die vordem als gesund betrachtet wurden.

Das häufige Ausmelken der Kühe allein führte zu keiner Heilung; in manchen Fällen wurde damit sogar eine Verschlimmerung des Leidens herbeigeführt.

Trotz langen Bestehens der Galt-Infektion kann die Milch der erkrankten Viertel von einer solchen Beschaffenheit sein, daß sie keinen Grund zur Beanstandung bietet. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Rice, E. B., The coliform bacteria of butter. (Ann. Soc. of Agric. Bacteriologists. Edinburgh 1937.)

In 130 Butterproben von australischen Butterprüfungen wurden im Mittel 245 000 Keime (670—3 800 000) gefunden. 8 Betriebe erhitzten den Rahm in einem „Vacreator" (in einem Vakuum von über 330 mm) auf 87—92° C und dieser enthielt dann durchschnittlich 4500 Keime gegenüber 27 500 bei gewöhnlicher Pasteurisierung. Ein hoher Coligehalt der Butter entsprach im allgemeinen auch einem höheren allgemeinen Keimgehalt. Nach 8 Wochen langer Lagerung bei —12° ging der Coligehalt etwas zurück. Das Salzen der Butter hatte nach 28 Tagen bei 16° C keinen Rückgang im Coligehalt zur Folge, hingegen stieg bei solcher Lagerung in ungesalzener Butter der Coligehalt rasch an. Die positiven Röhrchen des Gallennährbodens enthielten rund 59% Bact. coli, 23% Mittelformen, 10% Bact. oxytocum, 3% Bact. aerogenes und 5% Bact. cloacae.

A. Janoschek (Weihenstephan).

Jacobsen, D. H., Bacterial content and keeping quality of butter after removal from storage. (Journ. of Dairy Sci. Vol. 21. 1938. p. 187—193.)

Es sollte an Hand von 15 Versuchen geklärt werden, wie sich die Bakterienflora und die Haltbarkeit von gesalzener und ungesalzener Butter ändert, wenn sie nach 3monatiger Lagerung im Kühlhaus bei —25° C anschließend 7 Tage bei Raumtemperatur aufbewahrt wird im Vergleich zu solcher Butter, die sofort nach Herstellung 7 Tage bei Zimmertemperatur gelagert wird. Ergebnisse: Die Aufbewahrung

bei — 25° C während 3 Monaten hatte sowohl bei der gesalzenen wie bei der ungesalzenen Butter einen deutlichen Rückgang der Gesamtbakterienzahl zur Folge. Der Rückgang war aber bei der gesalzenen Butter nicht so stark wie bei der entsprechenden ungesalzenen Probe. Augenscheinlich hatte die keimvernichtende Eigenschaft des Salzes von Anfang an einen größeren Einfluß auf die Keimzahlreduktion als das nachträgliche Gefrieren der Bakterien in der gesalzenen Butter. Eine Veränderung im Aroma war nicht festzustellen. Verhalten nach Aufbewahrung bei Zimmertemperatur: Die 7 Tage unmittelbar nach Herstellung bei Zimmertemperatur aufbewahrte ungesalzene Butter erwies sich in jeder Beziehung derjenigen überlegen, die erst nach 3monatigem Gefrieren 7 Tage lang aufbewahrt worden war. Es trat bei der letztgenannten nicht bloß eine raschere Keimvermehrung ein, sondern auch eine viel raschere geschmackliche und geruchliche Verschlechterung. Obwohl in einigen Proben große Mengen von fettspaltenden und eiweißzersetzenden Bakterien gefunden wurden, konnten engere Beziehungen zwischen deren Entwicklung und den vorhandenen Aromafehlern nicht gefunden werden. Bemerkenswerterweise veränderten sich bei der gesalzenen Butter die Bakterienkeimzahlen 7 Tage nach Verlassen des Kühlhauses nicht mehr. Es konnten weder fettspaltende noch eiweißzersetzende Bakterien nach Aufbewahrung bei Zimmertemperatur festgestellt werden. Aromafehler, soweit sie vorhanden waren, beschränkten sich hier ausschließlich auf Talgigkeit. Aus der Gesamtheit der Untersuchungen ergibt sich ohne Zweifel eine Überlegenheit der gesalzenen Butter unter den vorhandenen Versuchsbedingungen.

K. J. Demeter (München-Weihenstephan).

Davis, J. G., Alcohol-Glycerol rennet preparations in cheese-making. (Journ. of Dairy Res. Vol. 9. 1938. p. 80—84.)

Da der hohe Keimgehalt des Naturlabes in der Käserei mitunter störend wirkt, hat Verf. Alkohol-Glyzerin- und Salzwasserauszüge von Labmägen vergleichend untersucht, und zwar auf: Keimgehalt, Brauchbarkeit in der Käserei, Haltbarkeit und Eiweißabbau im Käse. In Salzwasser-Auszügen wurden rund 100 000 und in Alkohol-Glyzerin-Auszügen kaum 50 Keime gefunden, und selbst ein 22 Jahre altes Glyzerin-Alkohol-Präparat enthielt nur ca. 150 Keime. 5 Cheddarkäse, die mit Alkohol-Glyzerin-Präparaten hergestellt wurden, schnitten bei der späteren Prüfung auf Qualität in jeder Beziehung tadellos ab. Ein Vorteil der Alkohol-Glyzerin-Präparate liegt in deren fast unbeschränkter Haltbarkeit, und ein 22 Jahre altes Präparat hatte in seiner Labstärke so gut wie gar nichts eingebüßt. Der Eiweiß-Abbau in reifenden Käsen wurde durch die beiden verschiedenen Präparate nicht wesentlich verschieden beeinflußt. Das Alkohol-Glyzerin-Lab kann nach Ansicht des Verf.s genau so verwendet werden wie das Naturlab. Der geringe Keimgehalt schließt eine Gefährdung des Reifungsverlaufes aus.

A. Janoschek (Weihenstephan).

Nikolaew, A. M., Über die Bereitung des „Gorgonzola"-Käses. (Die Milch-Industrie UdSSR. Bd. 2. 1937. S. 21—23.) [Russisch.]

Die Käsesorte „Gorgonzola" gehört zur Gruppe „Roqueforti", da ihr Reifungsprozeß hauptsächlich durch Penic. roqueforti beeinflußt wird. Zur Bereitung des Käses kann nur frische Milch mit einem Fettgehalt von nicht unter 4,0% und einem Säuregrad von nicht über 20° Th. benutzt

werden. Der Reifungsprozeß dauert ca. 4 Monate. Reifer russischer „Gorgonzola"-Käse enthält im Durchschnitt: Wasser 38—40%, Fett 30—32% (in der Trockensubstanz nicht unter 50%), Eiweißstoff 21—23%, Salz 4,0—4,5%.
M. Gordienko (Berlin).

Tarantola, Cl., Variations de l'acide citrique sous l'influence des ferments du vin. (Bull. Inst. oenolog. Algérie. T. 10. 1937. p. 186—189.)

Nach Heiduschka und Pyriki ändert sich der Zitronensäuregehalt des Weinmostes während der Gärung nicht, wenn mit Reinhefe vergoren wird. Untersuchungen von Ventre zeigten ein gegenteiliges Ergebnis, besonders bei geschwefelten Mosten. Zur Klärung der Frage wurde ein Most mit 0,194% Zitronensäure mit verschiedenen Hefen, ohne oder mit Schwefelung vergoren. Dabei zeigte sich, daß schweflige Säure den Zitronensäureabbau nicht begünstigt. Die Zitronensäure vermindert sich während der Gärung beträchtlich, ohne ganz zu verschwinden. Die Stärke der Abnahme hängt von der Heferasse ab. Verschiedene an den Traubenbeeren haftende Organismen reduzieren die Zitronensäure ebenfalls erheblich, Apiculatus-Hefe dagegen kaum. Essigbakterien greifen praktisch die Zitronensäure nicht an, dagegen wird sie erheblich vermindert durch Mycoderma vini und ein Bakterium. Die Untersuchungen wurden in Italien durchgeführt.
K. Müller (Freiburg i. Br.).

Mikrobiologie des Düngers, Bodens, Wassers und Abwassers.

Obrazcowa, A. A. und **Minenkow, A. R.,** Spurenelemente als wirksamkeitsbedingender Faktor des Nitragins. (Mikrobiologie. Bd. 6. Folge 7. 1937. S. 877—895.) [Russisch.]

Die Versuche bezweckten, die Bedeutung des Bors, Mangans und Molybdäns für Leguminosen (blaue Lupine, Erbse) zu klären, wobei man diese Spurenelemente auch mit Nitragin in den Boden einbrachte (Versuchsboden: Podsol-, Waldsteppenboden und Schwarzerde). Für die Lupine äußerte sich die Wirksamkeit der Nitraginanwendung in einer Erhöhung der Kornerträge um 3,5—7,0 dz/ha (60—70% Erhöhung), und die des Nitragins mit Spurenelementen in weiterer Erhöhung um 2,7 dz/ha. Die besten Resultate mit Lupine ergab Molybdän, mit Erbse Bor und auch Molybdän. Die Spurenelemente trugen zu besserer Knöllchenbildung, sowie zu besserer Entwicklung der Knöllchenbakterien bei; jedoch war die Knöllchenmenge auch von Feuchtigkeitsverhältnissen des Bodens beeinflußt. Mn erhöhte nicht nur die Menge, sondern auch die Lebensdauer des Bact. radicicola. Als optimale Dosis der Spurenelemente (in Feldkultur) erwiesen sich 50 mg B/1 Flasche Nitragin/1 ha, 50—75 mg Mo. und 75—100 mg Mn.
M. Gordienko (Berlin).

Berjezowa, E. F., Kulikowa, W. I. u. a., Die Rolle der chemischen und biologischen Faktoren bei partieller Sterilisation des Bodens. (Mikrobiologie. Bd. 6. Folge 6. 1937. S. 773—786.) [Russisch.]

Die chemische Wirkung des Chlorpikrins auf den Boden äußert sich vor allem in der Vermehrung der wasserlöslichen organischen Masse sowie des Stickstoffs in diesem, später vermehrt sich auch die Menge der Phosphorsäure und des Kalis im Boden. Auf die Mikroflora äußert sich die anfängliche Wirkung des Chlorpikrins in einer starken Depression, danach beginnt aber die Aktivierung ihrer Entwicklung. Die Aktivierung wird hauptsächlich durch

die Veränderungen des Verhältnisses zwischen den Arten der Mikroorganismen im Boden und durch die Vermehrung der organischen Stoffe in diesem bedingt. Die Ertragssteigerung wird hauptsächlich durch Mobilisierung der organischen Stoffe hervorgerufen. Der Mehrertrag hängt aber sehr davon ab, inwiefern der Moment der Mobilisierung der Nährstoffe im Boden mit dem des größten Bedarfs an diesen bei Pflanzen zusammenfallen wird.
M. Gordienko (Berlin).

Nagel, C. M., The longevity of Cercospora beticola in soil. (Phytop. Vol. 28. 1938. p. 342—350.)

Verf. sucht nachzuweisen, daß Cercospora beticola im Boden leben kann, und daß von dort aus die Infektion erfolgt. Nach 18 und 27 Monaten war der Erreger in sterilem Boden voll lebensfähig, während er in natürlich infiziertem Boden nach 9—20 Monaten einen Teil Pathogenität eingebüßt hatte. Reichliche Konidienbildung setzt in jungen Bodenkulturen ein. In sterilem Boden kann der Pilz Temperaturen von + 15,5 bis — 27,8° C ertragen. Bei p_H 6—7,4 war kein Unterschied in der Myzel-Entwicklung festzustellen. Sie wurde jedoch begünstigt, wenn reichlich anorganische Substanz vorhanden war. Winkelmann (Münster i. W.).

Barsow, K. K., Die beschleunigte Zählmethode des Bact. coli im Wasser mit Hilfe von Membranfiltern. (Mikrobiologie. Bd. 6. Folge 7. 1937. S. 912—915.) [Russisch.]

Auf dem modifizierten Nährboden von Endo (s. u.) färben sich Kolonien des Bact. coli aus den durch Membranfilter filtrierten Flußwässern mit Erytrosin und erscheinen nach 3 Std. bei 41° C. Modifizierter („beschleunigender") Nährboden von Endo enthält: 0,75% Agar-Agar, 1,0% Pepton, 1,5% Fleischextrakt, 1,5% Fleischhydrolysat, 1,0% Laktose, 0,125% Sulfit, 0,05% Fuchsin und Extrakt aus Gerstenkeimlingen (4 ccm/100 ccm Nährboden). M. Gordienko (Berlin).

Zobell, Cl. E., and Rittenberg, S. C., The occurrence and characteristics of chitinoclastic bacteria in the sea. (Journ. Bact. Vol. 35. 1938. p. 275—287.)

Chitinzersetzende Bakterien kommen im Seewasser allgemein weit verbreitet vor und wurden an der Küste von Südkalifornien im Seewasser, im Schlick und an Seetieren in großer Zahl vorgefunden. 31 isolierte Reinkulturen wurden untersucht. Von diesen sind einige in der Lage, aus dem Chitin sowohl ihren Energiebedarf als auch ihren Stickstoffbedarf zu decken, während andere das Chitin nur als Kohlenstoffquelle oder nur als Stickstoffquelle verwerten können und wiederum andere gleichzeitig noch einfach gebaute Kohlenstoff- und Stickstoffverbindungen zur Verfügung haben müssen, wenn sie Chitin angreifen sollen. Viele chitinzerstörende Bakterien setzen Ammoniak oder Säure aus dem Chitin in Freiheit, wobei dieses manchmal aufgelöst wird. In einigen Kulturen wurden auch reduzierende Zucker als Zersetzungsprodukte nachgewiesen. Bortels (Berlin-Dahlem).

Brand, T. von, Rakestraw, N. W., and Renn, C. E., The experimental decomposition and regeneration of nitrogenous organic matter in sea water. (Biological Bulletin. Vol. 72. No. 2. 1937. p. 165—175.)

Es wurde der Abbau von Plankton in Seewasser an den Werten der

verschiedenen Stickstoffverbindungen verfolgt. Dabei zeigte sich, daß der Abbau des Planktons, gemessen an seinem Stickstoffgehalt, sehr schnell und intensiv einsetzte und später zum Stillstand kam. Der freigewordene Stickstoff trat als Ammonium im Wasser auf. An die Ammonbildung schloß sich Nitrit- und Nitratbildung an. Der Vergleich der Plankton- und Ammonstickstoffwerte ergab, daß sich keine größeren Mengen intermediärer organischer N-Verbindungen bildeten. Die Keimzahlen des Wassers erreichten ihr Maximum wesentlich eher als der Ammonstickstoff und bevor der Planktonabbau zum Stillstand kam. C. R. Baier (Kiel-Kitzeberg).

Smith, W. W., and **Zobell, C. E.,** Direct microscopic evidence of an autochthonous bacterial flora in Great Salt Lake. (Ecology. Vol. 18. No. 3. 1937. p. 453—458.)

Das Wasser des Großen Salzsees in Nord-Utah ist gesättigt an NaCl, $NaSO_4$ und $CaCO_3$. Sein Salzgehalt beträgt 336,23 g/l. Mittels der Objektträgermethode wiesen Verff. nach, daß das Wasser des Sees eine reiche und vielseitige Bakterienflora besitzt. Aus der Entwicklung von Mikrokolonien auf den Objektträgern geht hervor, daß diese Bakterien nicht passiv eingeschleppt sind, sondern sich im Seewasser vermehren. Es sind meist kleine gramnegative Stäbchen neben solchen Formen, die auf Grund ihrer Morphologie sich nicht in die übliche Typologie einreihen lassen.

C. R. Baier (Kiel-Kitzeberg).

Waksman, S. A., and **Hotchkiss, M.,** On the oxidation of organic matter in marine sediments by bacteria. (Journal of Marine Research. Vol. 1. No. 2. 1937. p. 101—118.)

Das Ausmaß der Oxydation der organischen Substanz mariner Sedimente wurde in seinen Beziehungen zur Menge und Art der Sedimente, zur Entfernung von der Küste und der Wassertiefe untersucht. Als Maß der Oxydation diente der Sauerstoffverbrauch bei 2—4 wöchiger Aufbewahrung in sauerstoffgesättigtem Wasser. Die Sauerstoffzehrung sandiger Sedimente und die chemische Sauerstoffzehrung der untersuchten Sedimente waren wesentlich geringer als die biologische Zehrung der Schlämme. Das Ausmaß der Oxydation von Sedimenten aus größeren Tiefen war beträchtlich geringer als das von landnahen Flachseesedimenten. Die Werte für die Oxydation der organischen Substanz der Sedimente (geschätzt nach dem N-Gehalt) sind bedeutend geringer als die früher für die organischen Stoffe des Wassers und das Plankton bestimmten Werte. Die Oxydation betraf nur die nicht stickstoffhaltigen Komponenten. Die Mineralisation von Stickstoff war gering.

C. R. Baier (Kiel-Kitzeberg).

Waksman, S. A., and **Vartiovaara, U.,** The adsorption of bacteria by marine bottom. (Biological Bulletin. Vol. 74. No. 1. 1938. p. 56—63.)

Durch Schütteln von Meeresschlamm mit Misch- und Reinkulturen von Meeresbakterien in Meerwasser wurde eine starke Adsorption der Bakterien an den Schlamm nachgewiesen. Sand zeigte diesen Effekt nur in geringem Maße. Die Mischkultur zeigte nach dem Schütteln einen wesentlichen Anstieg der Keimzahl. Wie aus der gleichzeitig gesteigerten Sauerstoffzehrung hervorgeht, erfolgt diese Vermehrung auf Kosten der organischen Substanz des Schlammes. Die Adsorptionserscheinungen, die an Aufschwemmungen von Reinkulturen beobachtet wurden, können nicht ohne weiteres auf natürliche Verhältnisse übertragen werden. Die Untersuchungen ergeben, daß das

marine Sediment auf die Bakterienflora der bodennahen Wasserschichten eine gewisse selektive Wirkung ausübt. C. R. Baier (Kiel-Kitzeberg).

Butler, M. R., The effect of its nitrogen content on the decomposition of the polysaccharide extract of Chondrus crispus. (Biological Bulletin. Vol. 73. No. 1. 1937. p. 143—146.)

Der an der Sauerstoffzehrung gemessene Abbau von Chondrus crispus in Seewasser ist intensiver als der seines Polysaccarid-Extraktes. Die Ursache ist der höhere N-Gehalt des ersteren. Nach Zusatz von Nitrat steigt die Zersetzungsintensität der Rotalge an. In Proben mit verschiedenem N-Gehalt war die Abbauintensität dem N-Gehalt proportional.

C. R. Baier (Kiel-Kitzeberg).

Schädigungen der Pflanzen durch physikalische, chemische und physiologische Einflüsse.

Mulder, E. G., Over de beteekenis van koper voor de groei van planten en micro-organismen. [Über die Bedeutung des Kupfers für das Wachstum der Pflanzen und Mikroorganismen.] Dissertation. Wageningen (Veenman & Zonen) 1938. 121 S.

Diese Untersuchungen sollen die Bedeutung des Kupfers als Mittel gegen die Urbarmachungs- oder Heidemoor-Krankheit dartun. Diese Krankheit, erstmals von Elema beschrieben, kommt sowohl in Holland wie in anderen Ländern (u. a. in Deutschland, Dänemark und Florida) vor. Durch Zufall lernte man die überaus günstige Wirkung von Kupfersulfat bei der Urbarmachung kennen. Verf. untersuchte nun vor allen Dingen den Zusammenhang zwischen Kupferdüngung und Vorbeugung der obengenannten Krankheit. Zunächst wurden die Krankheitserscheinungen bei Getreide, Erbsen und Kartoffeln in Töpfen mit kranker Erde verglichen mit den Kupfermangel-Erscheinungen dieser Pflanzen in Wasser- und Sandkulturen. Es zeigte sich, daß Pflanzen wie Kartoffeln und Roggen, welche gegen die Urbarmachungskrankheit wenig empfindlich sind, auch ein geringeres Kupferbedürfnis haben als die empfindlicheren Pflanzen wie Weizen, Gerste und Hafer. Weiter stellte sich heraus, daß von dem zugefügten Kupfer nur ein kleiner Teil von den Wurzeln aufgenommen wird, während der Rest von den Bodenbestandteilen gebunden wird. Für die Bekämpfung der Krankheit ist das Kupfersulfat also im Überschuß zuzufügen. Um in den verschiedenen Böden das pflanzenlösliche Kupfer zu bestimmen, wurde eine biologische Methode ausgearbeitet, wobei die Sporenfarbe von Aspergillus niger, in Kolben mit Nährlösung samt den zu prüfenden Bodenproben bei 30° C gezogen, als Maßstab für die assimilierbare Kupfermenge diente. Zur Bildung der normalen schwarzen Sporenfarbe benötigt Aspergillus niger nämlich eine Menge von 2,5 γ Cu je 40 ccm Nährlösung; bei 1 γ Cu ist die Sporenfarbe graubraun, bei 0,2 γ Cu gelb. Hat man sich durch Vorversuche auf diese Weise ein Farbenschema hergestellt, so läßt sich die Kupfermenge im Boden annähernd richtig bestimmen.

Aus diesen Versuchen ergab sich, daß sehr kranke Böden weniger als 0,4 γ verfügbares Kupfer je 1 g lufttrockenen Boden enthielten, wenig kranke 0,8—1,3 γ und gesunde Böden mehr als 2 γ und oft mehr als 2,5 γ. Die Ursache des niedrigen Gehaltes an pflanzenlöslichem Kupfer bei heidemoor-

kranken Böden liegt darin, daß dergleichen Böden imstande sind, Kupfer in schwerlöslicher organischer Form festzulegen. Als Maßnahmen dagegen empfiehlt Verf.:

1. Dampfsterilisation. 2. Behandlung des Bodens mit Alkohol oder Azeton. 3. Düngung mit $(NH_4)_2SO_4$ statt $NaNO_3$. 4. Verbesserung der Bodenstruktur. Bei der Anwendung des $CuSO_4$ hat sich gezeigt, daß auf mit Kalk behandelten urbarmachungskranken Böden öfters die sog. Dörrfleckenkrankheit auftritt. Da diese Krankheit auf Manganmangel zurückzuführen ist, so ließe sich eine Wechselwirkung zwischen Cu und Mn vermuten. In der Tat hat sich herausgestellt, daß kleine Kupfermengen imstande sind, eine von Pilzen ausgelöste Mangan-Oxydation zu fördern, so daß lösliche Mangano-Verbindungen in unlösliche Mangani-Oxyde verwandelt werden.

Zum Schluß bespricht Verf. die Bedeutung des Kupfers für Mikroorganismen und andere pflanzliche Zellen.

van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Neall, D. C., Crincle leaf, a new disease of Cotton in Louisiana. (Phytopathology. Vol. 27. 1937. p. 1171—1175, 2 figs.)

Verf. beschreibt eine als „Crincle leaf" bezeichnete Krankheit der Baumwolle. Diese Krankheit zeigt sich auf bestimmten Böden in Louisiana und äußert sich darin, daß die Blätter in jüngerem Stadium gefaltet, gesprenkelt, teilweise chlorotisch und verschiedentlich verdreht, später leicht verdickt, spröde und zerfetzt sind. Die Übertragungsversuche hatten keinen Erfolg.

Winkelmann (Münster i. W.).

Schädigungen der Pflanzen durch Pilze, Bakterien und filtrierbare Vira.

Brown, I. G., Relation of livestock to the control of sclerotinosis of lettuce. (Phytopathology. Vol. 27. 1937. p. 1045—1050, 1 Fig.)

Vieh kann zur Verbreitung von Sclerotinia sclerotiorum beitragen, wenn es mit Abfällen von erkranktem Salat gefüttert wird. Es kann aber auch bei der Vernichtung mitwirken, wenn es auf abgeernteten Feldern weidet und dort die befallenen Reste der Salatpflanzen frißt. Da Salat auf Feldern, die mehrere Jahre vorher Luzerne trugen, befallen wurde, war anzunehmen, daß die Infektion vom Boden her erfolgte, und daß der Erreger mit dem Dünger dorthin gebracht wurde. Es wurden daher Fütterungsversuche mit Schafen gemacht. Diese ergaben, daß nur 1,6% der aufgenommenen Sklerotien unverdaut ausgeschieden wurden, und daß von diesen wiederum weniger als 1% noch lebensfähig waren. Die Sklerotien wurden von den Schafen spätestens nach 4 Tagen wieder ausgeschieden.

Winkelmann (Münster i. W.).

Smith, C. O., Inoculation of some economic plants with Phytophthora cactorum and P. citrophthora. (Phytopathology. Vol. 27. 1937. p. 1106—1109, 1 Fig.)

Verf. berichtet über Infektionsversuche mit Phytophthora cactorum und P. citrophthora. In der Tabelle, in der das Ergebnis der Versuche dargestellt ist, sind 49 Pflanzen aufgeführt.

Winkelmann (Münster i. W.).

Bedwell, J. L., Twig blight of Asiatic chestnuts especially that caused by Phomopsis. (Phytopathology. Vol. 27. 1937. p. 1143—1151, 2 figs.)

An Castanea mollissima und C. crenata wurde in ungünstigen Lagen, bei ungünstigen klimatischen Bedingungen und bei Verwundungen Zweigkrebs beobachtet. An den erkrankten Stellen wurden folgende Pilze gefunden: Phomopsis, Sphaeropsis, Diplodia, Cytospora, Diplodina, Macrophoma, Fusicoccum, Dothiorella, Phoma und Epicoccum. Infektionsversuche mit Phomopsis gelangen. Winkelmann (Münster i. W.).

Volk, A., Biologie und Bekämpfung der Typhulafäule an Wintergerste. (Die kranke Pflanze. Bd. 15. 1938. S. 23—27.)

Typhula graminum Karst. verursacht an Gerste, Weizen, Roggen und einigen Gräsern eine gefährliche Fußkrankheit. Das Temperatur-Optimum des Pilzes liegt bei + 8°. Die Sklerotien sind gegen hohe und sehr tiefe Temperatur (— 30°) widerstandsfähig. Die Infektion ist am stärksten bei 2—5° und hoher Boden- und Luftfeuchtigkeit. Für die Erkrankung scheint eine Schwächung der Gerste Vorbedingung zu sein. Alle geprüften Wintergersten-Sorten sind hoch, 6 Winterweizen- und 2 Winterroggen-Sorten dagegen wenig anfällig. Alle Sommersorten werden nicht befallen, da eine Infektion infolge zu hoher Temperatur nicht mehr stattfinden kann. Verf. gibt einige Bekämpfungsmöglichkeiten an, die sich im wesentlichen auf Hygienemaßnahmen beschränken. Schultz (Berlin-Dahlem).

Branas, Jean, Traitements du mildiou de la vigne. (Revue de viticulture. T. 88. 1938. p. 141—147, 165—168, 180—184.)

Verf. gibt einen Überblick über die Peronosporabekämpfung, wie sie in Frankreich gehandhabt wird. Von Metallen, die gegen den Pilz wirksam sind, kommen nur Kupfer und Kadmium in Frage. Da aber letztes 30mal teuerer ist als Kupfer, spielt nur dieses praktisch eine Rolle. Es wird die Herstellung der Kupferkalkbrühe und der Burgunderbrühe besprochen. Dabei fällt auf, daß man in Frankreich die Kupferkalkbrühe in der großen Praxis immer noch in einer in Deutschland längst überwundenen Weise herstellt, indem man Kalkbrei in eine Kupfersulfatlösung gießt, bis sie schwach alkalisch reagiert. Bekanntlich ist diese Art der Herstellung viel weniger wirksam als die Zugabe einer verdünnten Kupfersulfatlösung zu einer verdünnten Kalkmilch, deren Gehalte vorher berechnet wurden. Außerdem findet in Frankreich auch eine trockene Mischung abgewogener Mengen Soda mit Kupfervitriol statt, die dann in das entsprechende Volumen Wasser gegeben werden. Da Regenwasser ein $p_H = 5{,}2—4{,}8$ besitzen kann, also leicht sauer reagiert, löst es etwas von dem kupferhaltigen Niederschlag auf den Reben auf und diese geringe Menge Kupfer genügt, um die Pilzkonidien abzutöten. Kupferoxychlorid spielt in Frankreich im Weinbau zur Zeit noch keine Rolle. Dagegen wird dort noch viel mit Kupferstäubemitteln gearbeitet, die in dem regenreichen Klima Mitteleuropas bekanntlich häufig versagen. Die Zeitpunkte für die Bekämpfung werden in Frankreich von den Weinbau-Stationen bekanntgegeben, und zwar nach der veralteten Methode unter Berücksichtigung des Wachstums der Reben. In kritischen Fällen soll man die Bespritzung wiederholen, wenn die Rebe 15 cm zugewachsen ist, normalerweise nach einem Zuwachs von 20—30 cm. Die Spritzapparatur ist dieselbe wie bei uns, nur kommt für die ebengelegenen Großbetriebe noch die fahrbare Spritze hinzu. Verbrennungen entstehen durch zu hohe Konzentrationen der Kupferbrühen und hängen auch ab von der Empfindlichkeit der Rebsorten. Eine Bekämpfung der Wintersporen ist erfolglos, ebenso eine Bekämpfung des Pilzes, sobald er in das Gewebe eingedrungen ist. Der Anbau pilzwiderstandsfähiger Rebsorten (Hybriden) spielt in Frankreich eine große Rolle, da dort ein Fünftel des Rebareals oder 250 000 ha aus Hybriden besteht. Im Hinblick auf die hohen Kosten, welche die Peronospora-Bekämpfung verursacht und auf die Unsicherheit des Erfolges der Bekämpfung, werden in Frankreich die Hybriden von den Winzern immer mehr bevorzugt. — Gesichert sind die Reben vor dem Peronospora-Pilz, wenn sie unter einem vorspringenden Dach kultiviert werden, das den Regen von den Blättern fernhält.

K. Müller (Freiburg i. Br.).

Laurent, P., Le Pourridié de la vigne. (Revue de viticulture. T. 88. 1938. p. 159—165.)

Der Wurzelschimmel an Reben kann durch verschiedene Pilze entstehen. Unter diesen sind am verbreitetsten Armillaria mellea und Dematophora necatrix. Der letzte Pilz erzeugt in Mitteleuropa die gefährlichste Form des Wurzelschimmels. Die Reben werden durch diese Pilze geschwächt, wie beim Auftreten der Reblaus, der Chlorose usw., aber die Blätter bleiben grün. Bei starkem Auftreten kann die Rebe mitten im Wachstum plötzlich verwelken. Die Ausbreitung der Krankheit kann u. a. leicht durch Anpflanzung von Jungreben aus verseuchten Rebschulen erfolgen. Die Bekämpfung ist wenig wirksam. Schwefelkohlenstoff wirkt nicht. Am sichersten ist Aushauen der Reben, Desinfektion des Bodens mit Schwefelkohlenstoff, nachdem alle Wurzelreste sorgfältig herausgelesen sind, und mehrjähriger Anbau von Getreide, dessen Wurzeln vom Pilz nicht angegriffen werden. — Daß man durch gründliches Rigolen und Bepflanzen der Wurzelschimmelherde mit Pfropfreben, Seuchenstellen sanieren kann, ist Verf. anscheinend nicht bekannt. K. Müller (Freiburg i. Br.).

Wollenweber, H. W. und Krüger, E., Die Septoria- oder „Pasmo"-Krankheit des Leins in Deutschland. (Nachrichtenbl. f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 18. 1938. S. 11—12.)

Die ursprünglich aus Argentinien beschriebene Krankheit wurde von Verff. 1936 an Leinstroh aus Südslavien festgestellt. Die Krankheit tritt auf dem Felde nesterweise auf. Blätter und Stengel werden fleckig. Die Blattflecken sind meist rundlich, zunächst grünlichgelb, später dunkelbraun. Die Stengel zeigen mißfarbene, bräunliche Ränder, Streifen und Flecken. Der Pilz kann Kelch und Fruchtknoten befallen und die Samenbildung beeinflussen. In Deutschland wurde die durch Septoria linicola erzeugte Krankheit 1937 bei 6 von 21 Flachsstroh-Proben gefunden. Die Strohproben stammten von kleineren Versuchsflächen. Um über die Verbreitung der Krankheit Näheres zu erfahren, bitten Verff. um Zusendung von verdächtigen Proben an die Biologische Reichsanstalt in Berlin-Dahlem.

Winkelmann (Münster i. W.).

Nesterowa, K., Das Beizen des Leinsaatgutes mit Präparat „PD". (Lein und Hanf. Heft 8. 1937. S. 34—37.) [Russisch.]

Das Beizen des Leinsaatgutes mit dem russischen Präparat „PD" (Präparat von Dawydow mit einem As_2O_3-Gehalt von 9,0—11,0%) führte zu einer bedeutenden Verminderung der Befallstärke der Pflanzen mit verschiedenen Krankheiten und zu einem dichteren Stand dieser, d. h. zu höherem quantitativen und qualitativen Leinfaserertrag (die durchschnittliche Effektivität des Präparates stellte sich rund auf 32,0%).

M. Gordienko (Berlin).

Baines, R. C., Mint anthracnose. (Phytop. Vol. 28. 1938. p. 103—113, 4 figs.)

Verf. beobachtete die Krankheit zuerst 1931 auf Mentha piperita var. vulgaris. Seitdem ist sie öfters festgestellt worden. Sie äußert sich zunächst in braunen Flecken auf Stengeln und Blättern. An den Stengeln gehen die Flecken dann vielfach ineinander über, umgeben den Stengel schließlich ganz und bringen ihn zum Absterben. Bei den Blättern fällt das abgestorbene Gewebe der Flecke vielfach heraus. Bei Mentha piperita var. officinalis und Mentha spicata sind die Krankheits-

symptome dieselben wie bei M. piperita var. vulgaris, während bei M. arvensis var. piperasceus die Flecke kleiner sind. Als Erreger wurde ein Sphaceloma isoliert. Der Pilz wuchs langsam auf Kartoffel-Dextrose, Malzextrakt, Leonian-Agar, Maismehl- und Hafermehlagar. Konidien wurden auf 6% Hafermehlagar bei p_H 5,5 gebildet. Wachstum erfolgte zwischen 14 und 28° C bei p_H 3,6—8,2. Die Überwinterung findet auf den Pflanzenresten auf dem Felde statt. Werden diese Reste aber mit Erde bedeckt, so ist die Gefahr der Ansteckung von den Resten aus nicht sehr groß. Winkelmann (Münster i. W.).

Friedrich, G., Eine einfache Kontrolle des Fusikladiumsporenfluges (Venturia inaequalis Cooke Aderhold). (Gartenbauwissenschaft. Bd. 11. 1938. S. 457.)

Durch verschiedene Versuche zum Fang von Venturia-Askosporen angeregt, fertigte Verf. eine „Sporenfalle" an. Der Unterschied in der Fangmethode besteht darin, daß Verf. statt eines Filters von Schießbaumwolle, wie ihn Keitt, Jones und Wiesmann verwendeten, Deckgläschen mit verflüssigter Vaseline besprühte und diese in reusenartiger Anordnung in einen luftdichten Holzzylinder einläßt. Auf der einen Seite des Zylinders ist ein Trichter zum Ansaugen der Luft angebracht, auf der anderen die Zuleitung zu einer Motorspritze, die als Saugpumpe umgebaut ist. Die durch die im Baum hängende Sporenfalle gesogene Luft beträgt pro Minute 15 l. Die Deckgläschen werden nach 1stünd. Durchsaugen untersucht. Der Erfolg ist erheblich besser als bei frei im Baum hängenden Objektträgern, die mit Vaseline bestrichen sind. Mit dieser Methode wurde im Jahre 1937 der Sporenflug im Alten Land festgestellt. Die Hauptsporenflugzeiten lagen am 21. 4. und 5. 5., also innerhalb einer sehr kurzen Zeitspanne.

Röder (Berlin-Dahlem).

Linder, D. H., New Venezuelan Fungi imperfecti. (Mycologia. Vol. 29. 1937. p. 656—664.)

Es wird eine Reihe von neuen Spezies beschrieben, die nicht in der unter den „Monographs of the University of Puerto Rico" erschienenen mykologischen Flora von Venezuela enthalten sind: Cercosporella Hurae Linder et Whetzel erzeugt Blattflecke auf Hura crepitans L., Periconia Toroi Linder, gleichfalls eine Blattfleckenkrankheit, auf Machaerium Moritzianum Benth., Pucciniopsis Lonchocarpi Linder, durch die sehr kleine Blattflecke auf Lonchocarpus sp. hervorgerufen werden, Ramularia Malvastri Linder auf den Blättern von Malvastrum sp. und schließlich Stigmella graminicola Linder in den Rispen von Tricholaena roseae Lk. Die Diagnosen der neuen Spezies werden angegeben.

Schultz (Berlin-Dahlem).

Gante, Th., Zur Resistenzzüchtung gegen Pseudopeziza ribis Klebahn. I. Beitrag zur Kenntnis der Infektionsbedingungen und der Kultur des Pilzes. (Gartenbauwissenschaft. Bd. 11. 1938. S. 675.)

Verf. geht nach einer eingehenden Beschreibung des Krankheitsbildes von Pseudopeziza ribis an Ribes auf den Krankheitsverlauf und auf Beobachtungen bei natürlichem Befall ein. Die Freilandbeobachtungen wurden 1936 an einer großen Anzahl Stachel- und Johannisbeersorten vorgenommen. Hierbei wurde festgestellt, daß der Zeitpunkt des Befalls bei den

einzelnen Sorten außerordentlich variierte. Bei künstlicher Infektion kann auch an solchen Sorten frühzeitiger Befall eintreten, bei denen der Pilz unter natürlichen Bedingungen erst gegen Ende der Vegetationsperiode auftritt. Das Eindringen der Sporen in das Blatt bei künstlicher Infektion erfolgt vor allem von der Blattunterseite her. Bei Versuchen, den in Kultur nur sehr langsam wachsenden Pilz zu schnellerem Wachstum und zu genügender Sporenbildung zu veranlassen, wurde ein flüssiger Nährboden, bestehend aus Hefewasser und Rohrzucker, gefunden, der diese Bedingungen erfüllt.

Röder (Berlin-Dahlem).

Hahn, G. G., and Ayers, Th. T., Failure of Dasyscypha willkomnii and related large-spore species to parasitize Douglas fir. (Phytop. Vol. 28. 1938. p. 50—57, 1 fig.)

Auf Grund seiner Infektionsversuche und der Freilandbeobachtungen kommt Verf. zur Ansicht, daß Dasyscypha willkomnii in den Vereinigten Staaten auf der blauen Douglas-Fichte weder parasitisch, noch saprophytisch lebt. Verff. haben ferner keine Anhaltspunkte dafür gefunden, daß der Pilz als Parasit an der Douglas-Fichte in Europa vorkommt. D. calycina und D. oblongospora wurden gelegentlich auf abgestorbenen Ästen der Douglas-Fichte gefunden. Die in Kultur gebildeten Apothezien von D. calycina und D. oblongospora waren morphologisch mit den im Freien beobachteten identisch. D. occidentalis konnte ebenfalls weder als Saprophyt, noch als Parasit auf der Douglas-Fichte festgestellt werden.

Winkelmann (Münster i. W.).

Wean, R. E., The parasitism of Polyporus schweinitzii on seedling Pinus strobus. (Phytop. Vol. 27. 1937. p. 1124—1142, 3 figs.)

Bei den Versuchen zeigte sich, daß das Wachstum von Sämlingen von Pinus strobus abhängig ist von dem p_H-Wert der Nährlösung und dem Gehalt an anorganischem Stickstoff und an Phosphor. Die Absorption von Kalzium und Phosphor wurde bei p_H 7 bei infizierten und nicht-infizierten Sämlingen vermindert. Die Hyphen von Polyporus schweinitzii durchdringen die lebenden Zellen der Wurzel. Der Parasitismus steigt mit der Alkalität der Nährlösung und mit der Verminderung des Phosphorgehaltes. Die Gesamtlänge des Wurzelsystems und die Zahl der Seitenwurzeln war bei infizierten Pflanzen von Pinus strobus geringer. Polyporus schweinitzii erhöhte die Azidität in nicht-gepufferten Lösungen. In gepufferten Lösungen war p_H 4 das Optimum für das Wachstum.

Winkelmann (Münster i. W.).

True, R. P., Gall developement on Pinus sylvestris attacked by the Woodgate Peridermium, and morphology of the parasite. (Phytop. Vol. 28. 1938. p. 24—46, 6 figs., 3 plates.)

Ein an Pinus sylvestris vorkommendes Peridermium, das bei Woodgate festgestellt wurde, wird als Woodgate Peridermium bezeichnet. Verf. berichtet eingehend über die Morphologie des Pilzes und über seine Untersuchungen über das Eindringen des Pilzes in die Wirtspflanze. Im zweiten Jahre nach dem Eindringen werden die Pykniden und im Jahre darauf Äzidien gebildet. Verf. ist der Ansicht, daß es mehr als eine physiologische Rasse gibt.

Winkelmann (Münster i. W.).

Goidanich, G., Le alterazioni cromatiche parassitarie del legname in Italia. [Die chromatischen parasitären Veränderungen des Holzes in Italien.] (Boll. R. Staz. Pat. Veg. Rom.)

I. Nozioni generali sui funghi cromogeni del legno. [Allgemeine Kenntnisse über die chromogenen Pilze des Holzes.] (Jahrg. 15. 1935. Nr. 2. S. 363—388.)

Hier wird über die chromogenen Pilze vom allgemeinen Standpunkt gesprochen, nämlich, wie die parasitären chromatischen Veränderungen entstehen, unter welchen Bedingungen sich die Pilze entwickeln, unter Berücksichtigung der Temperatur und besonders des Luft- und Wassergehaltes des Holzes und unter welchen sie die chromatischen Veränderungen hervorrufen (Verf. behauptet, daß auch die Pilze, welche Tracheomykosen verursachen, zu den chromogenen Pilzen gehören); ferner über Symbiose zwischen Pilzen und Insekten und über Beschädigung des Holzes. Ein reiches Literaturverzeichnis bildet den Schluß.

II. Una intensa colorazione del legno di pino causata da Sphaeropsis Ellisii Sacc., var. cromogena G. Goid. var. n. [Eine starke Färbung des Kiefernholzes, verursacht von Sphaeropsis Ellisii Sacc. var. cromogena G. Goid. var. n.] (Jahrg. 15. 1935. Nr. 3. S. 442—470.)

Verf. beschreibt ausführlich die morphologischen und biologischen Merkmale des Pilzes sowohl auf der Wirtspflanze als auch in Kultur, und gibt eine lateinische Diagnose. Der Pilz entwickelt sich stark in den Markstrahlen, dagegen sehr wenig in den Tracheiden. Die Fruchtkörper des Pilzes werden nur unter ganz besonderen Bedingungen (Imparaffinierung der Oberfläche des Kulturmediums) gebildet. Vom Verf. wurde der Befall an lebenden Pflanzen beobachtet, deren Wurzelsystem durch den sog. „incassamento" (Umschließen der Wurzeln in Kisten ohne Boden) beschädigt worden war.

III. Colorazione rosa del legno di pioppo, causata da „Fusarium javanicum" Kds. [Rosa-Färbung des Pappelholzes, verursacht von „Fusarium javanicum" Kds.] (Jahrg. 16. 1936. Nr. 1. S. 65—68.)

Verf. beschreibt kurz die Morphologie und die Biologie von Fusarium javanicum, das er aus dem Stamme von Populus canadensis isoliert hat, in welchem der Pilz eine rosa-violett oder lila Färbung hervorruft.

IV. I parassiti del legno di conifere. [Die Parasiten des Nadelholzes.] (Jahrg. 16. 1936. Nr. 4. S. 225—270.)

In diesem letzten Teil werden alle Pilze beschrieben, welche vom Verf. als chromogene Pilze aus dem Nadelholz isoliert wurden. Außer Sphaeropsis Ellisii var. cromogena, die hier nur kurz erwähnt ist, sind es folgende: Ophiostoma piliferum (Fr.) Syd., Graphium silanum G. Goid., Graphium penicillioides Cda., Grosmannia Ips (Rumb.) G. Goid., Grosmannia serpens G. Goid., Fusicoccum tingens G. Goid. Außerdem werden Trichoderma lignorum und Trichoderma Koningi kurz beschrieben, welche eine Bedeutung für die Veränderung des Holzes haben können. In der Arbeit sind auch verschiedene systematische Fragen behandelt, besonders über die Gattung Ophiostoma. Pesante (Rom).

Dodge, B. O., The perithecial cavity formation in a Leptosphaeria on Opuntia. (Mycologia. Vol. 29. 1937. p. 707—716.)

An Opuntia Lindheimeri wurde eine Spezies von Leptosphaeria, die Verf. als L. opuntiae n. sp. beschreibt, mit Hendersonia opuntiae Ellis et Ev. vergesellschaftet vorgefunden. Das wiederholte gemeinsame Vorkommen und morphologische Ähnlichkeiten (Bildung von Schlauchfrüchten und Pykniden usw.) veranlaßten Verf. zu der Annahme, daß beide Formen zu derselben Spezies gehören. Leider wurde der Beweis dieser Annahme durch Identifizierung mit Hilfe der künstlichen Kultur nicht geliefert. Schultz (Berlin-Dahlem).

Drechsler, Ch., Two hyphomycetes parasitic on oospores of root-rotting oomycetes. (Phytop. Vol. 28. 1938. p. 81—103, 5 figs.)

Verf. beschreibt 2 Pilze, die parasitisch auf verschiedenen Arten von Pythium, Phytophthora und Aphanomyces wachsen. Der eine konnte als Trinacrium subtile identifiziert werden. Der andere wird als neue Spezies unter Dactylella spermatophaga beschrieben. Winkelmann (Münster i. W.).

Escudié, P., Comparaison de trois champignons qui causent le „Mildiou". (Revue de viticulture. T. 88. 1938. p. 177—180.)

Verf. vergleicht die Entwicklung der Peronosporaceen auf Runkelrübe, Kartoffel und Rebe. Die endophytischen Peronosporaceen von allen 3 Nährpflanzen konnte bisher noch nicht künstlich bis zur Konidienbildung kultiviert werden. Was aber Verf. über die Pilzüberwinterung sagt, ist unzutreffend. Es scheint ihm nicht bekannt zu sein, daß z. B. Plasmopara viticola mit Oosporen überwintert und er weiß anscheinend auch nicht, daß es leicht glückt, mit überwinterten Blättern, die Oosporen enthalten, junge Rebblätter von neuem zu infizieren. K. Müller (Freiburg i. Br.).

Stevenson, F. J., Schultz, E. S., Clark, Cash L., and **Bonde, R.,** Breeding for resistance to late blight in the potato. (Phytopathology. Vol. 27. 1937. p. 1059—1070; 2 fig.)

Eine große Zahl von Sämlingen, die aus Deutschland stammendem Samen hervorgegangen waren, wurden in 3 Jahren nicht befallen. Keine von diesen Selektionen erwies sich aber als brauchbar, da der Gebrauchswert nicht befriedigte. Dasselbe war bei den Nachkommen aus der Kreuzung No Blight × Ekishirazu der Fall. Geeigneter waren Kreuzungen von S 45 349 × Ekishirazu, von No Blight × Katahdin und eine aus den anfälligen Sorten Chippewa und Katahdin. Bei Feldversuchen ergaben 3 mit Kupferkalkbrühe bespritzte resistente Sorten dieselben Erträge wie die ebenfalls bespritzte anfällige Sorte Green Mountain. Bei nicht bespritzten Parzellen brachten die resistenten Sorten wesentlich höhere Erträge.

Winkelmann (Münster i. W.).

Mader, E. O., and Mader, M. T., Effect of bordeaux mixture on three varieties of potatoes with respect to yields, composition of tubers, and control of scab. (Phytopathology. Vol. 27. 1937. p. 1032—1045; 2 fig.)

Bei den Spritzversuchen mit Kupferkalkbrühe an den Kartoffelsorten Irish Cobbler, Green Mountain und Rural Russet zeigte sich:

1. daß die Blüte bei Irish Cobbler und Green Mountain durch die Spritzung verzögert wurde;

2. daß die Gewichte der Knollen und Blätter bei den gespritzten Parzellen größer als bei den nicht-gespritzten waren, und daß die gespritzten Pflanzen mehr Knollen hatten als die nicht-gespritzten;

3. daß bei früher Spritzung eine Stockung im Wachstum der einzelnen Knollen eintrat;

4. daß die Knollen von den bespritzten Flächen einen höheren Kupfergehalt als die von den unbespritzten hatten;

5. daß der Gesamtstickstoffgehalt der Knollen von den gespritzten Parzellen größer war als bei denen von den nicht-gespritzten;

6. daß dasselbe auch hinsichtlich des Gehaltes an Reduktionszucker der Fall war;

7. daß das Verhältnis von Protein zu Stärke zunächst höher bei den Knollen der behandelten Parzellen war, während es sich später umgekehrt verhielt;

8. daß die Knollen von den bespritzten Flächen beim Kochen weniger schwarz wurden als die von den nicht-gespritzten;

9. daß der Schorfbefall durch die Spritzung vermindert wurde.

Verff. erörtern die Frage, ob der geringere Schorfbefall darauf zurückzuführen ist, daß die Knollen von den behandelten Parzellen einen höheren Kupfergehalt haben als die von den nicht-behandelten oder darauf, daß bei der Spritzung ein Teil des Kupfers in den Boden kommt, so daß die Knolle gegen den Befall geschützt wird. Winkelmann (Münster i. W.).

Dhein, A., Einfluß der Kalisalzdüngung auf die Widerstandsfähigkeit der Kartoffel gegen Schorf. (Pflanzenbau. Bd. 14. 1937. S. 99—111.)

Es wurde der Einfluß verschiedener Kalisalz-Düngemittel auf den Schorfbefall untersucht unter Zugabe einer physiologisch sauren und einer physiologisch alkalischen Grunddüngung. Die erste (schwefelsaures Ammoniak und Superphosphat) setzte den Befall erheblich herab, während er durch die letztgenannte (Natronsalpeter und Thomasmehl) erhöht wurde. Von den Kalidüngern wirkte schwefelsaure Kalimagnesia am besten. Die Wirkung des schwefelsauren Kali war in Verbindung mit physiologisch saurer Grunddüngung ähnlich. 40% Düngesalz erwies sich auf Sandböden als ungeeignet. Eine Beziehung zwischen der Bodenreaktion und dem Grad des Schorfbefalls war nicht eindeutig zu erkennen. Ob der Einfluß der Düngung auf den Schorfbefall auf einer Änderung der Bodenreaktion beruht, ist also zweifelhaft. — Verf. hat seine Untersuchungsergebnisse in 9 Tabellen niedergelegt.

Schultz (Berlin-Dahlem).

Ehrlich, G., Kartoffelbeizung. (Dtsch. Landw. Presse. Jahrg. 65. 1938. S. 75—76 und 92.)

Verf. erläutert zunächst, gegen welche Krankheitserreger eine Beizung in Frage kommen könnte. In der Hauptsache wären es die Schorferreger (Actinomyces spec.) und der Erreger der Pockenkrankheit (Rhizoctonia solani). Dann werden sehr ausführlich die Schwierigkeiten geschildert, die sich bei der Kartoffelbeizung ergeben. Allerdings hat man den Eindruck, daß Verf. nur die Verhältnisse in den ostdeutschen Kartoffel-

anbaugebieten in Betracht zieht. Er übersieht, daß auch in westdeutschen Gebieten schon beträchtliche Mengen von Kartoffeln mit bestem Erfolge gebeizt werden. Die Naßbeizung ist keineswegs mit derartigen Schwierigkeiten verbunden, wie Verf. annimmt. Die Anwendung der Trockenbeize ist schon oft versucht worden, aber immer wieder aufgegeben worden, weil Keimschäden nicht verhindert werden konnten. Verf. setzt sich sehr für die Bodenentseuchung mit Mischungen von Düngemitteln und Quecksilbersalzen ein, muß allerdings zum Schluß angesichts der heutigen Rohstofflage zugeben, daß dieser Weg zur Zeit nicht gangbar ist.

Winkelmann (Münster i. W.).

Erven, H., Aus der Praxis der Kartoffelbeizung zur Bekämpfung der Pockenkrankheit. (Dtsch. Landw. Presse. Jahrg. 65. 1938. S. 103—104, 7 Abb.)

Verf. beschreibt zunächst die Krankheitssymptome der Pockenkrankheit und berichtet dann, daß diese Krankheit im westdeutschen Frühkartoffelanbaugebiet starke Schäden hervorgerufen hat. Die Erfolge bei der Bekämpfung durch Tauchbeizung mit Aretan waren so ausgezeichnet, daß Verf. die Beizung von krankem Saatgut für unerläßlich hält.

Winkelmann (Münster i. W.).

Wilhelm, A. F., Eine neue Bakterienkrankheit an Begonien. (Die kranke Pflanze. Bd. 15. 1938. S. 4—5.)

Diese 1936 zum ersten Male beschriebene Krankheit zeigt sich in glasigen Flecken der Blätter, die an Fettflecken erinnern. Auch Stengel erkranken. Erreger ist ein noch nicht bestimmtes Bakterium, das sich Gram-negativ verhält. Künstliche Übertragung gelingt durch Auftragen einer Bakteriensuspension. Bekämpfung durch Entfernen der erkrankten Pflanzen.

Schultz (Berlin-Dahlem).

McNew, G. L., Isolation of variants from cultures of Phytomonas stewarti. (Phytop. Vol. 27. 1937. p. 1161—1170, 2 figs.)

Die Einzellkulturen von Platten virulenter Kulturen von Phytomonas stewarti unterschieden sich in ihrer Pathogenität. Die Varianten wurden in 4 Gruppen: kaum, schwach, virulent und stark virulent eingeteilt je nach der Fähigkeit, nekrotische Flecke oder Welken auf 10 Tage alten Maispflanzen hervorzurufen. 2 weiße Varianten traten in einer Kultur auf.

Winkelmann (Münster i. W.).

Heierle, E., Untersuchung einer unter dem Namen „Rost" in der Schweiz stark verbreiteten Tabakkrankheit. (Ber. Schweiz. Bot. Ges. Bd. 47. 1937. S. 363—368.)

Unter der Bezeichnung „Rost" gehen in der Schweiz eine Anzahl von Blattkrankheiten am Tabak. Schon 1881 wird eine solche Krankheit aus dem Kanton Aargau beschrieben. Heute werden als „Rost" in der Schweiz bezeichnet: das Wildfeuer, die eckige Blattfleckenkrankheit und die von den Kartoffeln übertragbare Viruskrankheiten. Durch Impfversuche wurde der Nachweis erbracht, daß Wildfeuer und eckige Blattfleckenkrankheit auf den Erreger der Wildfeuerkrankheit zurückgehen. Sie treten nur in Gegenden auf, in denen seit Jahren Tabakbau betrieben wird und werden mit eingeführten Samen eingeschleppt. Die Krankheit nimmt darum ihren Ausgang von Saatbeeten. Sämtliches Saatgut muß deshalb mit 1% Silbernitrat sterilisiert werden, und in alten Anbaugebieten ist auch eine Sterilisierung der Saatbeeterde erforderlich. In verseuchten Gebieten müssen die Setzlinge in

den Saatbeeten und die jungen Pflanzen auf dem Felde mit ½proz. Kupferkalkbrühe bespritzt werden. — Außerdem wird als „Rost" auch eine von Kartoffeln übertragene Viruskrankheit angesehen. In virusfreien Kartoffelgegenden tritt die Viruskrankheit auch am Tabak nicht auf. In Tabakgegenden wird deshalb der Bekämpfung der Viruskrankheiten doppelte Aufmerksamkeit zu schenken sein. Die künftige Tabakzüchtung wird den Sorten, die gegen die Wildfeuerkrankheit widerstandsfähig sind, besondere Beachtung schenken müssen. K. Müller (Freiburg i. Br.).

Gigante, R., Il mosaico della zucca. [Die Mosaikkrankheit des Kürbisses.] (Boll. R. Staz. Pat. Veg. Rom. Jahrg. 14. 1934. Nr. 4. S. 503—530.)

Die Krankheit wurde vom Verf. nur in der Umgebung von Rom beobachtet. Die Symptome der Krankheit sind nur auf den Blattspreiten zu sehen. Die histologischen und zytologischen Merkmale der Krankheit sind die gewöhnlichen der Mosaikkrankheiten. X-Körper wurden gefunden. Die Übertragung der Krankheit auf gesunde Pflanzen ist gelungen sowohl durch künstliche Infektion (Abreibung, Impfung) wie durch Blattläuse (Aphis Gossypii); Versuche erblicher Übertragung durch den Samen sind dagegen erfolglos geblieben. Auf den kranken Pflanzen im Felde ist nur Aphis Gossypii gefunden worden. Pesante (Rom).

Gigante, R., Il mosaico del sedano. [Die Mosaikkrankheit des Selleries.] (Boll. R. Staz. Pat. Veg. Rom. Jahrg. 16. 1936. Nr. 2. S. 99—114.)

Am Sellerie in Lazio ist eine Viruskrankheit hervorgetreten, welche durch folgende Merkmale gekennzeichnet ist: Chlorosis und meist auch Kräuselung der Blätter, nekrotische Flecken auf den Blattstielen, welche sich oft nach auswärts biegen, schwächere Entwicklung der Pflanze. Übertragungsversuche durch Impfung und Reibung mit virusenthaltendem Saft sowie durch infizierte Blattläuse (Cavariella Pastinacae) sind gelungen, nicht dagegen Übertragungsversuche durch den Boden und den Samen. Verf. ist es auch gelungen, Kürbispflanzen mit diesem Virus zu infizieren, wobei das Krankheitsbild aber dem der schon beobachteten Mosaikkrankheit dieser Pflanze entspricht. Diese Krankheit des Selleries stimmt mit der von Doolittle für Florida beschriebenen überein bis auf den Überträger, der für Italien Cavariella Pastinacae ist.
Pesante (Rom).

Gigante, R., Il mosaico della violaciocca. [Die Mosaikkrankheit der Lackviole.] (Boll. R. Staz. Pat. Veg. Rom. Jahrg. 16. 1936. Nr. 3. S. 166—174.)

Diese Krankheit wurde in Rom beobachtet. Die Blätter zeigen eine Chlorose und sind häufig mißgestaltet. Der Stengel wächst unregelmäßig gewunden, die Internodien sind kürzer und die Blätter zahlreicher als in den normalen Pflanzen. Die Übertragung wurde durch Saftimpfung und durch Pfropfung ausgeführt; durch den Boden ist sie nicht gelungen; ob Blattläuse die Krankheit übertragen können, bleibt zweifelhaft.
Pesante (Rom).

Gigante, R., Una nuova malattia del pomodoro. [Eine neue Krankheit der Tomate.] (Boll. R. Staz. Pat. Veg. Rom. Jahrg. 16. 1936. Nr. 3. S. 183—198.)

Auf Tomatenpflanzen aus Sizilien wurde eine Viruskrankheit gefunden, deren Symptome sowohl auf den Blättern wie auf Stengel und Früchten vorkommen. Auf den Blättern erscheinen außer gelblich-grünen Flecken, wie in anderen Mosaikkrankheiten, auch grau-grüne bis grau-braune Flecken, deren entsprechende Flächen viel dünner als die normalen (bis ein Viertel von diesen) und durch Absterben und Schrumpfen der Zellen, von der oberen Epidermis beginnend, charakterisiert sind. Der Stengel zeigt eine Nekrose des Phloems. Auf den Früchten kommen weißliche, gelbliche und rosafarbige Flecken vor. Die Verdrängung des Chlorophylls durch Xanthophyll und die Bildung von Lykopin sind gehemmt. Histologische Merkmale dieser Früchte sind die Entstehung von schwammartigem Gewebe und Lücken, entsprechend den weißlichen, und die Nekrose der Gefäße entsprechend den anderen Flecken. Die Krankheit ist von der „Bronzefleckenkrankheit" und von dem „Blotch ripening" verschieden. Es ist nicht gelungen, die Krankheit durch Saftimpfung und mit dem Samen zu übertragen, wohl aber durch Pfropfung. Pesante (Rom).

Tierische Schädlinge.

v. Winning, E., Der Stand der Ausbreitung des Kartoffelkäfers in Frankreich, Belgien, Luxemburg und Deutschland im Herbst 1936. (Nachrichtenbl. f. d. Deutsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 18. 1938. S. 16—17.)

In Frankreich waren 1936 1760 Kantone und 1800 Gemeinden als verseucht erklärt worden gegenüber 1573 Kantonen und 2394 Gemeinden im Jahre 1935. Aus Belgien wurden 46 Gemeinden als verseucht gemeldet. Erstmalig trat der Käfer auch in Luxemburg in 5 Gemeinden auf. In Deutschland wurde das Auftreten des Schädlings im Saarland und im südlichen Rheinland aus 26 Gemeinden bekannt. Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Eidmann, H., Neue Untersuchungen über die Nonne. (Anz. Schädlingskunde. Jahrg. 14. 1938. S. 13—18.)

Verf. berichtet über die neueren Arbeiten im Zool. Inst. der forstl. Hochschule Hannover-Münden. Das große Aufgabengebiet zur Erforschung und Bekämpfung der Nonne Lymantria monacha wurde in: 1. wissenschaftliche (biologisch-epidemiologische) und 2. praktisch-technische (Prognose und Bekämpfung) Arbeiten eingeteilt. Die Arbeiten der ersten Gruppe wurden vorwiegend im Institut, die der zweiten Gruppe in der Waldstation im Zentrum des Hauptbefallsgebietes, der 25 000 ha großen Rominter Heide durchgeführt.

Die biologisch-epidemiologischen Arbeiten haben als Richtlinie die Erforschung der Ursachen der Entstehung und des Zusammenbruches der Nonnen-Kalamität. — Die wesentlichsten Ergebnisse sind folgende: Die Zeugungskraft ist nicht konstant, Geschlechtsverhältnisse und Eizahl erleiden im Laufe der Gradation erhebliche Veränderungen. Besondere Untersuchungen betreffen die Morphologie der Legeröhre und der Kopulationsorgane der Nonne. — Durch extrem schlechte Umweltbedingungen sollen die Weibchen in der Regel stärker leiden als die Männchen. Da im Laufe einer Gradation sich die Umweltbedingungen in zunehmendem Maße für das gradierende Insekt verschlechtern, ist damit eine prinzipielle Erklärung für das Absinken des Weibchenanteils während der Kalamität gegeben. — Ein Nonnen-Männchen kann bis 4 Weibchen begatten. Daher kommt auch

der höchste, im Freiland vorkommende Weibchenanteil zur vollen Auswirkung und ist ungeachtet eines geringen Männchenanteils prognostisch voll in Rechnung zu stellen.

Weitere Untersuchungen befassen sich mit der Aktivität, dem Orientierungsvermögen und der Verbreitungsmöglichkeit der Eiraupe, da die Eiraupe ein für die Verbreitung der Nonne sehr wichtiges Entwicklungsstadium darstellt. Die jungen Eiräupchen sind stark positiv phototaktisch und negativ geotaktisch. Im Laufe des Lebens treten Änderungen ein. — Ferner besitzt die Eiraupe ein ausgezeichnetes Formen- und Farbenunterscheidungsvermögen. — Frisch geschlüpfte Räupchen vermögen 100 m ohne Nahrungsaufnahme zurückzulegen, können also die höchsten Bäume ersteigen. Die Bewegungsgeschwindigkeit ist von der Temperatur abhängig. Neben der aktiven Verbreitung der Eiräupchen spielt auch die passive durch den Wind eine große Rolle. Sie wird gefördert durch besonders lange Schwebehaare. Die Räupchen können durch Luftströmungen (warme Aufwinde) nach oben entführt werden. Durch horizontale Winde werden sie kilometerweit verfrachtet. Durch sog. Ballonhaare, welche als Sinnesorgane gedeutet werden, soll die Windgeschwindigkeit wahrgenommen werden. Die Räupchen vertrauen sich, sofern sie keine Nahrung gefunden haben, aktiv den Luftströmungen an.

Untersuchungen über die Temperaturabhängigkeit der Nonne haben ergeben, daß sämtliche Entwicklungsstadien gegen Temperaturextreme, wie sie im Freien vorkommen können, weitgehend geschützt sind. — Als wichtiger Faktor der biotischen Umwelt wird das Auftreten der Nonnentachine Parasetigena segregata näher studiert. — Zur Bekämpfung wird das Kontaktgift „Detal" geprüft. — Auch die Nebenwirkung von Kontakt- und Fraßgiften auf die Bienen wird untersucht. — Weitere Arbeiten geben eine zusammenfassende Darstellung über die Nonne als Großschädling in Ostpreußen und zwar in ökologischer und epidemiologischer Bearbeitung. — Berücksichtigt werden ferner biotische Faktoren (Vogelschutz), ferner das Problem der Fichtenrassen. Karl Gößwald (Berlin-Dahlem).

Wöste, Die Getreide-Blumenfliege. (Deutsche Landw. Presse. Jahrg. 64. 1937. S. 600.)

Auf den leichten Böden NW-Deutschlands tritt mit zunehmendem Hackfrucht- und Gründüngungsbau Blumenfliegenschaden stärker in Erscheinung. Neben einigen bereits bekannten Vorbeugungsmitteln (mehrmaliges Eggen und Walzen, keine Stallmistdüngung, u. U. auch keine Gründüngung) empfiehlt Verf. ein Teeren des Saatgutes, durch das die Blumenfliege abgeschreckt wird. Durch das Teeren wird das Beizen des Getreides nicht ersetzt.

Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Klemm, M., Umgeknickte und liegende Getreidehalme (Getreidehalmwespe — Cephus pygmaeus L.). (Deutsche Landw. Presse. Jahrg. 64. 1937. S. 427.)

Lebensweise und Schadbild der Getreidehalmwespe werden beschrieben. Um Verlusten im nächsten Jahr vorzubeugen, wird tiefes Umpflügen der Stoppeln empfohlen. Abbrennen ist nur bei hohen, dichten, trockenen und wenig verunkrauteten Stoppeln ohne zusätzliches Bedecken mit Stroh möglich. Auf diese Weise können bis 80% der Schädlinge vernichtet werden. Verf. empfiehlt, wenn möglich, beide Verfahren zu kombinieren, indem nach der Ernte das Stoppelabbrennen erfolgt und im Herbst tief gepflügt wird.

Goffart (Kiel-Kitzeberg).

McBeth, C. W., White clover as a host of the sugar-beet nematode. (Proc. Helm. Soc. Washington. Vol. 5. 1938. p. 27—28.)

Die jungen Larven dringen unmittelbar oberhalb des Vegetationspunktes in die Wurzeln von Weißklee ein und stellen sich parallel zur Längsachse

der Wurzel. Es bilden sich schließlich die charakteristischen zitronenförmigen Weibchen. In den Größenmaßen unterscheiden sich Eier und Larven von denen des Rübennematoden nicht. Ein Versuch, die an Klee lebenden Tiere auf Rüben zu übertragen, hatte keinen Erfolg.

Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Edwards, E. E., On the eelworm disease of Primulas caused by Anguillulina dipsaci Kühn. (Journ. of Helminthology. Vol. 15. 1937. p. 221—232.)

Anguillulina dipsaci wurde an 23 verschiedenen Arten und 7 Unterarten von Primeln als Schädling beobachtet. Die Krankheitserscheinungen äußern sich namentlich während der Sommermonate in einer beträchtlichen Hypertrophie des Gewebes an Blattstielen und Blütenstengeln, die zu starken Mißbildungen führen. Die Blätter nehmen eine blaßgrüne bis gelbliche Farbe an und werden später oft braun. In leichteren Fällen bräunen sich nur die Blattrippen. Die Anfälligkeit der einzelnen Sorten war recht unterschiedlich. Hauptquellen der Infektion sind die trockenen Rückstände befallener Pflanzen. Auch die Einschleppung kranker Pflanzen aus anderen Betrieben spielt eine Rolle. Empfohlen wird zeitiges Entfernen und Verbrennen der erkrankten Primeln. Pflanzen aus anderen Betrieben sollten erst in die eigenen Bestände eingereiht werden, wenn sie sich als gesund erwiesen haben. Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Steiner, G., Nematodes infesting Red Spiderlilies. (Journ. Agric. Res. Vol. 56. 1938. p. 1—8.)

Die „rote Spinnenlilie" Lycoris radiata Herb. wird in der südatlantischen Region der Vereinigten Staaten von Amerika von folgenden Pflanzennematoden befallen: Ditylenchus dipsaci (Kühn) Filipiev, die Zwiebel- oder Stengelnematode; Aphelenchoides fragariae (Ritzema Bos) Christie, die Knospen- oder Blattnematode; ferner Rotylenchus brachyurus n. sp., ein neuer Entoparasit des Wandertyps, welcher ausschließlich die Wurzel-Exodermis angreift. In einem Fall wurde die Infektion durch die Zwiebel- oder Stengelnematode als von Narzissus übertragen nachgewiesen. Die Infektionserscheinungen, welche von D. dipsaci und A. fragariae in der Zwiebel der Rotspinnenlilie hervorgerufen werden, gleichen den von diesen Parasiten verursachten braunen Ringen in der Knolle der Narzisse. Cephalobus persegnis Bastian verursacht gleichfalls braune Ringe in der Zwiebel der Rotspinnenlilie. Dorylaimus subtilis Thorne und Swanger wurde ebenfalls als Wurzelparasit festgestellt, ist aber als Schädling von geringerer Bedeutung.

Karl Gößwald (Berlin-Dahlem).

Schmitt, H., Über Fragen der praktischen Schädlingsbekämpfung im Weinbau. (Nachr. üb. Schädlingsbekämpfung. Bd. 13. 1938. S. 36—42.)

Das Jahr 1937 hat große Ausfälle durch Schädlinge am Weinstock gebracht. Verf. befaßt sich mit der Frage, wie in Zukunft solche Ausfälle verhindert werden können. Zunächst wird festgestellt, daß nicht überall große Ertragsverluste vorkamen, sondern einzelne Betriebe hatten sogar größere Ernten als 1936. Die Winzer schoben den Mißerfolg in der Schädlingsbekämpfung auf die verwendeten Mittel. Statt daß sie aber zweimal vor der Blüte spritzten, wie sachkundige Berater immer angeraten haben, wurde vielfach nur einmal gespritzt, um an Brühe zu sparen, und dann vielfach zu spät. Bei dem starken Auftreten des Heuwurms war dann der Schaden sehr groß, während er bei zweimaliger Vorblütebespritzung nur gering blieb. Die Sauerwurmbekämpfung wurde gründlicher durchgeführt, nutzte aber nicht mehr viel. Das Jahr 1937 zeigte

also wieder einmal, daß nur gründliches und rechtzeitiges Spritzen erfolgreich ist, sobald mit stärkerem Auftreten des Traubenwicklers zu rechnen ist. Wo der Heuwurm regelmäßig auftritt und die Winzer noch nicht gelernt haben, eine gründliche Bekämpfung durchzuführen, fordert Verf. mit Recht eine obligatorische Bekämpfung im Interesse der Allgemeinheit. K. Müller (Freiburg i. Br.).

Moreau, E., Traitements contre les vers de la grappe effectués en 1937 par la Station de recherches viticoles de la Maison Moet-et-Chandon. (Revue de viticulture. T. 88. 1938. p. 52—54.)

1937 trat in der Champagne der Traubenwickler überaus stark auf. Zahlreiche Versuche wurden mit z. T. französischen Mitteln durchgeführt, und zwar wurde gegen beide Generationen des Traubenwicklers zweimal gespritzt, das erstemal 13 Tage nach dem stärksten Mottenflug, das zweitemal 8 Tage später. Die größten Erträge (75 kg je Ar) wurden in jenen Parzellen erzielt, die gegen den Sauerwurm mit Kupferkalkbrühe gespritzt wurden, der das erstemal Bleiarsenat, Nikotinsulfat und „Novemol", bei der zweiten Bespritzung nur Nikotinsulfat und „Novemol" zugesetzt waren. Was „Novemol" ist, wird nicht angegeben. Wo aber dieses Mittel der Brühe zugesetzt wurde, blieb auch der Mehltau (Oidium) von den Reben fern, während in Parzellen ohne „Novemol" dieser Pilz in einer Stärke auftrat, wie in der Champagne seit langem nicht mehr gesehen.

K. Müller (Freiburg i. Br.).

Massee, A. M., An Eriophyid Mite injurious to Tomato. (Bull. Entomol. Res. Vol. 28. No. 3. 1937. p. 403.)

Ein neuer Milbenschädling der Tomate, Phyllocoptes lycopersici Massee wird beschrieben. Die Milbe verursacht eine „Versilberung" und Kräuselung der unteren Blätter; Stengel und Blattstiele werden braun und die unteren Blätter und Blüten fallen schließlich ab, die Früchte verkümmern und werden rauhhäutig. Der Schädling ist verbreitet in Queensland und Neuseeland. Göß wald (Berlin-Dahlem).

James, H. C., Sex Ratios and the Status of the Male in Pseudococcinae (Hem. Coccidea). (Bull. Entomol. Res. Vol. 28. No. 3. 1937. p. 429—461.)

Das Männchen von Pseudococcus (Schildlaus, Zitronenschädling) ist für die Fortpflanzung ebenso bedeutungsvoll wie das Weibchen. Unbegattete Weibchen von Ps. citri Risso, Ps. maritimus Ehr., Ps. gahani Green, Ps. longispinus Targ. und Trionymus peregrinus Green können keine Nachkommen hervorbringen. Das Geschlechtsverhältnis und die Fruchtbarkeit der einzelnen Arten wird angegeben und begründet. Göß wald (Berlin-Dahlem).

Hodson, W. E. H., On Synonymy and Biology of the Strawberry Aphis, Capitophorus fragariae Theo (1912). (Bull. Entomol. Res. Vol. 28. No. 3. 1937. p. 409—416.)

C. fragariae (Blattlaus) überträgt eine Virus-Krankheit an Erdbeeren, die sich durch Vergilben der Blattränder bemerkbar macht.

In der ersten Zeit erscheinen geschlechtliche und sog. ungeschlechtliche Formen in England nebeneinander. Die untersuchte Art und die amerikanischen Formen sind wahrscheinlich verschiedene, aber nahe verwandte Arten. Die Biologie des Schädlings wird auf Grund von Labor- und Freiland-

beobachtungen besprochen und zum Schluß auf die wirtschaftliche Bedeutung der Art und die Schwierigkeit der Bekämpfung hingewiesen.

Göß wald (Berlin-Dahlem).

Rivnay, E., Factors, affecting the Fluctuations in the Population of Toxoptera aurantii Boy. in Palestine. (Ann. Appl. Biol. Vol. 25. 1938. p. 143—154.)

Die Aphide Toxoptera aurantii wird an Citrus in Palästina nur selten schädlich, und zwar dann vorübergehend im Frühjahr. Die günstigste Temperatur für die Entwicklung und Vermehrung liegt zwischen 22 und 25° C, auch Temperaturen zwischen 18 und 22° C genügen noch, um eine starke Infektion herbeizuführen; Temperatur unter 18° C ist nachteilig für das Heranwachsen der Population, bei 7° C findet kaum eine Vermehrung statt. Bei 30—32° C ist die Sterblichkeit der Nymphen meist 100proz. Bei 34—35° C hört die Fortpflanzung auf. Bei 36° C sterben auch die erwachsenen Tiere in kurzer Zeit.

Die jährlichen Schwankungen der Populationsdichte werden beschrieben. Der Schädling pflanzt sich in Palästina das ganze Jahr hindurch parthenogenetisch fort. Fortpflanzung verschiedener Geschlechter wurde nicht beobachtet.

Schließlich wird der Einfluß der Nahrung und der jährlichen Temperaturschwankungen auf das Wachstum erörtert und die wirtschaftliche Bedeutung des Schädlings dargelegt. Karl Göß wald (Berlin-Dahlem).

Fisher, Ronald C., Studies of the Biology of the Death-Watch Beetle, Xestobium rufovillosum De G. II. The Habits of the Adult with special Reference to the Factors affecting Oviposition. (Ann. Appl. Biol. Vol. 25. 1938. p. 155—180.)

Von dem Klopfkäfer (Anobiidae) Xestobium rufovillosum wurde die Lebensweise der Imago, die Eiablage und die Larvenentwicklung festgestellt, ferner die Zeit der Verpuppung und des Schlüpfens unter natürlichen Verhältnissen. Weitere Abschnitte behandeln die Entwicklung der Gonaden nach der Verpuppung bis zur Eiablage, auch verschiedene Lebensäußerungen der Imago, wie Aktivität, Flug, Paarung, werden erörtert. Die Eiablage wurde unter bestimmten Temperatur- und Luftfeuchtigkeitsbedingungen studiert. Unter natürlichen Verhältnissen legt ein Weibchen binnen 6—9 Wochen im Mai und Juni 48 Eier, das Eistadium dauert je nach der Temperatur 3—5 Wochen. — Im Labor wurde die Eiablage und das Schlüpfen der Eier bei Temperaturen von 15, 20, 25 und 30° C und bei 23, 41, 53, 75, 86 und 95% rel. Luftfeuchtigkeit geprüft. Anwachsen der Temperatur zu einem Maximum zwischen 25 und 30° C ist fördernd, aber nur bei einem geringen Sättigungsdefizit. Zusammenfassend ergibt sich ein Ansteigen der Widerstandskraft gegen Trockenheit bei steigender Temperatur.

Karl Göß wald (Berlin-Dahlem).

Pustet, A., Die Bekämpfung der Bisamratte in Deutschland 1936/37. (Nachrichtenbl. f. d. Deutsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 18. 1938. S. 12—16.)

Der im Vorjahr unternommene Vorstoß auf der gesamten Reichsfront konnte an denjenigen Stellen, die durch ungünstige Witterungseinflüsse nicht gestört wurden, planmäßig vorgetragen werden. In vielen Fällen war es jedoch infolge der Wetterungunst (Hochwasser, häufiges Schwanken des

Wasserspiegels, harter Winter) nicht möglich, das angestrebte Jahresziel zu erreichen. Zu Geländeverlusten ist es aber nirgends gekommen.

Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Verschiedenes.

Funk, E., Über den Ersatz von Agar-Agar durch Pektin bei bakteriologischen Arbeiten. (Klin. Wochenschr. Jahrg. 16. 1937. S. 1546.)

Wegen zunehmender Schwierigkeiten bei der Beschaffung von Agar hat Verf. Versuche mit Pektinstoffen aus dem Apfel als Ersatz von Agar angestellt und bei der Kultur von Aspergillus niger beste Erfolge erzielt. Ebenso wie Agar stellen die Pektinstoffe stark lyophile Kolloide mit großem Wasserbindungsvermögen dar; das Grundgerüst ist konstitutionschemisch eine Polygalakturonsäure.

Das bekannte Präparat „Opekta" ist ungeeignet, es enthält vermutlich Konservierungsmittel. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Hennyey, E. v., Untersuchungen über die Gebrauchsfähigkeit von Bakterienfiltern. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 140. 1937. S. 74—76.)

Typhus-, Paratyphus- und Proteus-Bakterien vermögen das Berkefeld „N"-Filter schon innerhalb 1 Std. zu durchwandern. Außer von der Bakterienart ist die Durchwanderungszeit auch vom Nährboden abhängig (verkürzte Durchwanderungszeit bei Züchtung oder Abschwemmung mittels Bouillon, wahrscheinlich durch Keimvermehrung in der Filterkerze verursacht). Die Filtration muß also sofort nach dem Aufgießen der zu filtrierenden Flüssigkeit erfolgen. Aus den obigen Resultaten ergibt sich weiterhin die Unbrauchbarkeit alter oder nicht gut gewaschener Filter, bei welchen die Filtration schwer, mitunter nur nach mehrstündigem Saugen gelingt.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Hanne, R., Über Heißluftsterilisation. (Dtsch. med. Wochenschr. Jahrg. 44. 1937. S. 1659—1662.)

Eine wirksame Heißluftsterilisation setzt voraus, daß der Hitzeanstieg von unten nach oben vor sich geht. Gelangt die heiße Luft von oben in den Innenraum, so ist eine gleichmäßige Durchwärmung eine Unmöglichkeit; denn wegen des Fehlens jeder treibenden Kraft und Bewegung steht die unten befindliche kalte Luft fast stille und bekommt keinen Auftrieb. In diesem Fall kommt es zu Temperaturabweichungen an verschiedenen Stellen bis zu über 60°.

Versuche, die Trockensterilisation in ihrer Wirkung zu verbessern, sind im Gange. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Haschè, E. und Loch, P., Quantitatives über die Einwirkung von Kurzwellen auf Bakterien (15 m, 3,5 m, 52 cm). (Klin. Wochenschr. Jahrg. 17. 1938. S. 59—63.)

In Ergänzung früherer qualitativer bakteriologischer Untersuchungen ließ sich auch quantitativ eine Wachstumsbeeinflussung des Bact. coli und des Microc. pyogenes aureus in dest. Wasser, Bouillon und festem Agar durch Kurzwellen von der Wellenlänge 3,5 m nicht feststellen. Es fand weder Wachstumsanregung noch Abtötung der Bakterien statt.

Bei der Wellenlänge 52 cm trat bei Microc. pyogenes aureus in Bouillon quantitativ eine Wachstumshemmung und teilweise Abtötung ein, deren Wesen aber noch ungeklärt ist. Um eine sog. „selektive Wirkung", wie sie verschiedene

Autoren angeben, handelt es sich jedenfalls nicht. Wellen von 3,5 m Länge blieben ohne Einfluß.

Ein dem Microc. pyogenes aureus entgegengesetztes Verhalten zeigten Diphtheriebakterien, also Schädigung bei 3,5 m Wellenlänge, keine Schädigung bei 52 cm Wellenlänge.

Eine Fernwirkung der Kurzwellen war gegenüber Microc. pyogenes aureus in der Umgebung von 1,5—260 m von den Sendern nicht feststellbar.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Zimmermann, W., Fehlerquellen bei der Einstellung und elektrometrischen Messung der Wasserstoffionenkonzentration der Nährböden. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 140. 1937. S. 137—144.)

Es werden die Änderungen des p_H-Wertes bei den verschiedenen Arbeitsgängen zur Herstellung von Nährböden, besonders die Titration des sauren Fleischwassers mit 15proz. Sodalösung, beschrieben.

Da die den p_H-Apparaten beigegebenen Temperaturkorrektionskurven nicht für eiweißhaltige Nährböden gelten, wurde mit einer Temperatur-Ausgleichelektrode das Ansteigen des p_H-Wertes mit der Temperatur gemessen, wobei eine Hysteresis des Apparates beobachtet wurde. Eine Tabelle bringt die Temperaturkorrektionswerte für Bouillon.

Für die Messung von festen Nährböden ergab die direkte Messung des erkalteten Agars sehr zuverlässige Werte (Verrühren mit viel Chinhydron zu einem Brei). Die sofortige Messung des heißen flüssigen Nährbodens ist möglich, wenn man den Temperaturkoeffizienten kennt. Dabei ist sehr schnelles Arbeiten und sofortige Messung nach dem Chinhydronzusatz erforderlich, da sich dieses bei höherer Temperatur schnell zersetzt und daraus dann zu niedrige Werte resultieren. Die Methode nach Attz (Verdünnung des Agars mit dest. Wasser) ergibt zu niedrige Werte. Auch die Interpolationsmethode nach Atkins und Thompson liefert mitunter unrichtige Zahlen.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Hosenfeld, M., Die Oligodynamie in Theorie und Praxis. (Chemiker-Ztg. Bd. 62. 1938. S. 3—5, 20—21.)

Oligodynamie ist die Wirkung kleinster Mengen von Kationen vor allem auf die lebende Zelle, wissenschaftlich systematisch wurde sie erstmals von C. von Nägeli erforscht, der mit Süßwasseralgen als Versuchsmaterial begann, während spätere Forscher fast alle Mikroorganismen in den Kreis ihrer Betrachtungen zogen und fast alle Metalle auf ihre oligodynamische Wirkung hin prüften. Eine bindende Erklärung über die Art der Wirkung des Metalles ist noch nicht gefunden. Von Einflüssen, die auf die Oligodynamie fördernd wirken, ist nur die Temperatur zu nennen, hemmende Einflüsse sind dagegen in größerer Menge zu nennen. Abgesehen von der Erniedrigung der Temperatur sind Kolloide und Suspensionen zu nennen, welche die Metallwirkung stark verringern. Von größtem Einfluß auf die Schnelligkeit der Abtötung der Mikroorganismen ist jedoch der Salzgehalt der Flüssigkeit, vor allem der Gehalt an Chlorid, auch der p_H-Wert des Wassers ist von Einfluß: im sauren Bereich steigen die Absterbezeiten stark an, im alkalischen sinken sie.

Die Bildung von Metallionen kann in drei verschiedenen Formen erfolgen. Einmal durch Zugabe von Salzen der betreffenden Metalle, durch Lösen der Metalle mit Hilfe von in den Flüssigkeiten enthaltenen Agenzien wie CO_2, O_2 usw. und schließlich unter Zuhilfenahme eines Gleichstroms. Für Sterilisationszwecke ist die Oligodynamie nicht verwendbar, da es zahlreiche, gegen

Metallionen völlig unempfindliche Keime gibt. Zur Desinfektion von Wasser wird Silber verwendet, dessen Verteilungsform für die bakterizide Wirkung ausschlaggebend ist. Das Wasser muß aber frei von Schwebestoffen und arm an Chloriden sein. In Hallenbädern ist die Silberwirkung allein nicht ausreichend, in Freibädern mit großem Frischwasserzusatz leistet Silber oder Kupfer zur Bekämpfung der Algen gute Dienste. In der Essigindustrie und bei der Süßmostbereitung ist die Silberwirkung in der Regel nicht ausreichend.

Heuß (Berlin).

Fromherz, H. und **Heiß, J.**, Zur Kenntnis der oligodynamischen Wirkung des Silbers. (Ztschr. f. angew. Chemie. Bd. 50. 1937. S. 679—681.)

Über die oligodynamische Wirkung des Silbers hat sich neben der Deutung durch Strahlungswirkung und durch katalytische Kräfte immer mehr die Ansicht durchgesetzt, daß von einer bakterientötenden Wirkung des Silbers nur unter Bedingungen die Rede sein kann, unter denen das Silber — zumindestens oberflächlich — in lösliche Verbindungen übergeht, die mit dem Eiweiß der Zelle reagieren. Verff. konnten nun experimentell beweisen, daß die oligodynamische Wirkung des Silbers von Silberionen herrührt, die unmittelbar aus Silberverbindungen stammen oder über Lokalströme in Konzentrationsketten an oberflächlich oxydierten oder sonst verunreinigten Silberstücken ausgesandt werden. Alle unter einwandfreien Bedingungen beobachteten Erscheinungen der Oligodynamie lassen sich hiermit erklären. Als Schwellenwert für die oligodynamische Wirkung errechnete sich eine Konzentration von 2 bis $3 \cdot 10^{-11}$ Mol/l an Ag-Ionen. Aus diesem kleinen Wert ist es ohne weiteres verständlich, daß praktisch alle schwerlöslichen Silbersalze noch oligodynamisch wirksam sind. Heuß (Berlin).

Bartos, D. und **Buchgraber, J.**, Vergleichendes Verfahren zur Prüfung von Desinfektionsmitteln. (Arch. f. Hyg. u. Bakt. Bd. 119. 1937. S. 26—34.)

Zum Zwecke der Standardisierung der Untersuchung von Desinfektionsmitteln ist es notwendig, daß die Widerstandsfähigkeit der zu verwendenden Stämme bis zu einem gewissen Grade konstant ist. Dies läßt sich weitgehend durch eine bestimmte Zahl (10) von Passagen auf optimalen Nährböden erreichen.

Die Suspensions - Formalin - Standard - Methode ist geeigneter als die Phenol-Methode, um die keimtötende Fähigkeit von Desinfektionsmitteln auszudrücken, weil sie auch für sehr verschiedene Bakterientypen (Staphylokokken, Coli) und für Sporen den Wert angibt.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Aoki, K., Weitere Mitteilung (III.) über die Wirkung von Desinfektionsmitteln auf die verschiedenen Rezeptoren von Bakterien. (Ztschr. f. Immunitätsforsch. u. exper. Therapie. Bd. 91. 1937. S. 280—284.)

Die Wirkung der Desinfektionsmittel auf Bakterien besteht darin, daß bestimmte Rezeptoren in einen löslichen Zustand gebracht werden, wodurch die betreffenden Bakterien zugrunde gehen.

Die in Lösung gebrachten Rezeptoren sind zwar befähigt, Agglutinin in vivo zu bilden, aber nicht in vitro zu binden.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Abgeschlossen am 18. August 1938.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 99. No. 5/8.
Ausgegeben am 12. Oktober 1938.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über den Einfluß der Bodenreaktion auf die Ammonifikation und Nitrifikation in humusreichen Böden.

[Aus dem Botanischen Institut der k.-ungar. Palatin-Joseph-Universität für technische und Wirtschaftswissenschaften, Sopron, Ungarn. Direktor: Prof. Dr. D. Fehér.]

Von **Yellow Hwang** und **Melanie Frank.**

Mit 3 Abbildungen im Text.

In einer experimentellen Untersuchung über Stickstoffumsetzungen und Aziditätsänderungen in humusreichen Böden haben Sallinger und Hwang (1) zur Erklärung der zweigipfeligen p_H-Optima einiger Pflanzenarten (2) die Arbeitshypothese aufgestellt, die Ursache dieser ökologischen Erscheinung sei auf die im Boden stattfindenden Ammonifikations- und Nitrifikationsprozesse zurückzuführen. Fehér und Frank (3) haben auf Grund ihrer experimentellen Versuche, wobei sie sich mit den Wachstumsverhältnissen der verschiedenen Bodenbakterien bei verschiedenen R-Werten, d. h. Temperaturgraden × Feuchtigkeitsprozent, befaßten, bezüglich der nitrifizierenden Bakterien ein eingipfeliges Optimum und bezüglich der denitrifizierenden Bakterien ein zweigipfeliges Maximum festgestellt.

In einer anderen Arbeit haben wir experimentell beweisen können, daß die Ammonifikation bei verschiedener Bodenazidität, verschiedenem Feuchtigkeitsgehalt und verschiedener Temperatur immer zweigipfelige Maxima aufweist, während die Nitrifikation bei Änderung derselben Umweltfaktoren immer nur ein eingipfeliges Optimum zeigt[1]).

Die Versuche, die wir jetzt besprechen werden, haben den Zweck gehabt, den Einfluß der Bodenazidität auf die Ammonifikation und Nitrifikation systematisch zu untersuchen und ihren gegenseitigen Zusammenhang eingehend aufzuklären.

Methodik.

Wir haben hierbei folgende chemische und biologische Faktoren bestimmt:

1. Die p_H-Werte elektrometrisch mit der Chinhydron-Elektrode bzw. mit dem Fehérschen Apparat (4).
2. Den Ammoniakgehalt kolorimetrisch durch Destillation nach Zugabe von MgO.
3. Den Nitratgehalt mit der von Sallinger und Hwang (1) modifizierten Mikromethode. Die Modifizierung bestand darin, daß nicht der Boden selbst, sondern das Destillat des Bodenauszuges verwendet wurde, in dem

[1]) Wird demnächst veröffentlicht.

dann der Nitratgehalt nach Überführung in Ammoniak nicht titrimetrisch, sondern kolorimetrisch bestimmt wurde.

4. Die Gesamtzahl der Bakterien getrennt nach aeroben und anaeroben Bakterien mittels der Plattenmethode, wobei die aeroben Bakterien auf Agar- und Gelatineplatten, die anaeroben auf Dextrose-Agar in Burriröhren gezüchtet wurden. Bei der Angabe der Gesamtzahl wurden diese 3 Gruppen zusammengezählt (4).

5. Die Zahl der mikroskopischen Pilze auf Pilz-Agar nach Waksmann (5). Bei der Artbestimmung wurden in der Literatur angegebene Bestimmungsbücher benutzt (6).

Die Mikroorganismenzahlen sind nach Hwang (7) in Logarithmen angegeben.

Die Besprechung der Versuche.

Als Versuchsmaterial haben wir einen ziemlich humusreichen Eichenwaldboden verwendet, der in lufttrockenem Zustande durch ein 2 mm porenweites Sieb geschickt wurde. Der so hergestellte Versuchsboden wurde unter aeroben und anaeroben Bedingungen durch Zugabe von verschiedenen Mengen von n H_2SO_4 bzw. n NaOH auf verschiedene p_H-Stufen gebracht und in gleichen Mengen (50 ccm) in Erlenmeyer-Kolben gefüllt. Die aeroben Versuchsbedingungen haben wir dadurch gesichert, daß wir mit Papierwattebausch verschlossene 300-ccm-Erlenmayer-Kolben benutzt haben. Die anaerobe Serie wurde dagegen so hergestellt, daß wir die 50 ccm Bodenmenge in 50 ccm große Erlenmayer-Kolben gefüllt und die so vollgefüllten Kolben mit Gummiverschluß versehen haben. Die unter aeroben Verhältnissen gehaltenen Proben wurden auf etwa 80% der Wasserkapazität gesättigt, während die anaeroben, da wir hier mit keiner Verdunstung rechnen mußten, nur auf etwa 60% der Wasserkapazität befeuchtet wurden. Die Kolben haben wir in Thermostaten gehalten und die Untersuchung nach 21 Tagen vorgenommen.

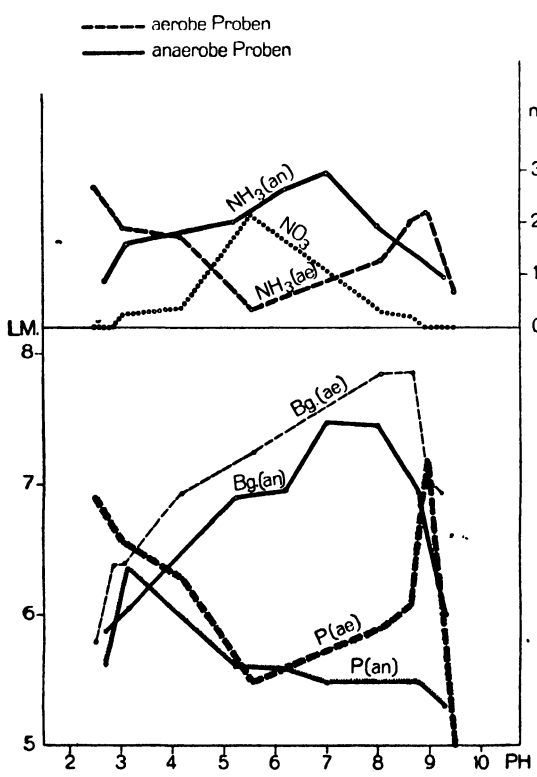


Abb. 1. Der Verlauf der Ammonifikation (NH_3), der Nitrifikation (NO_3) und der Mikroorganismengehalt bei verschiedenen Aziditätswerten unter aeroben und anaeroben Verhältnissen. Bg = Gesamtbakteriengehalt; P = Pilzgehalt; LM = Logarithmus der Mikroorganismenzahlen.

Die genaue Versuchsanordnung und die Resultate sind in der Tab. 1

Tabelle 1.

Zugaben von		p_H	mg NH_3–N	mg NO_3–N	Aerobe	Anaerobe	Gesamt	Pilze[1])
ccm H_2O	ccm n H_2SO_4 bzw. n NaOH		je 100 g Boden		Bakterien[1])			
			aerobe					
5	20 H_2SO_4	2,50	27,0	0	5,70	5,00	5,48	6,90
11	14 „	2,85	22,0	0	6,04	6,11	6,38	6,68
15	10 „	3,05	19,0	2,5	6,34	5,30	6,38	6,56
21	4 „	4,20	17,3	7,5	6,93	5,65	6,94	6,28
25	0	5,55	3,6	21,6	7,24	5,88	7,25	5,48
21	4 NaOH	8,08	15,2	5,5	7,62	7,43	7,84	5,90
15	10 „	8,65	20,4	2,2	7,81	6,83	7,85	6,08
11	14 „	8,95	22,3	0	6,87	6,54	7,04	7,20
5	20 „	9,50	6,6	0	6,75	6,48	6,93	5,00
			anaerobe					
0	20 H_2SO_4	2,70	8,9	0	5,70	4,80	5,87	5,61
6	14 „	3,15	16,2	0	5,95	5,30	6,04	6,36
10	10 „ [2])	—	—	—	—	—	—	—
16	4 „	5,24	20,2	0	6,90	5,48	6,92	5,60
20	0	6,21	26,5	0	6,96	5,78	6,97	5,58
16	4 NaOH	7,05	29,6	0	7,20	7,11	7,47	5,48
10	10 „	8,02	19,0	0	7,30	6,92	7,45	5,48
6	14 „	8,80	15,8	0	6,78	6,43	6,94	5,48
0	20 „	9,30	9,5	0	6,00	4,20	6,00	5,30
Anfangswerte (K):		5,38	2,5	1,4	7,10	5,92	7,12	5,68

[1]) Je Gramm feuchte Erde.
[2]) Verunglückt.

zusammengefaßt worden. Aus dieser Tabelle und aus der dazugehörigen Abb. 1 ist folgendes ersichtlich:

1. Zwischen dem Verlauf der Bakterienkurve und dem Verlauf der Pilzkurve ist in großen Zügen ein ausgesprochener Antagonismus wahrnehmbar. Dies gilt sowohl für die unter aeroben wie auch unter anaeroben Bedingungen gehaltenen Proben. In der Lebensgemeinschaft zwischen Bakterien und Pilzen ist ein gewisser Kampf ums Dasein vorhanden. Wo die Aziditätsverhältnisse für die empfindlicheren Bakterien günstig sind, vermehren sie sich. Die Zahl der Pilze wird dagegen in diesem p_H-Bereiche, d. h. im Bereich des Neutralpunktes und der diesem naheliegenden p_H-Werte, abnehmen. Bei den extremen p_H-Werten werden wieder infolge ihrer größeren Anpassungsfähigkeit die Pilze die Oberhand gewinnen. Das jetzt Gesagte gilt bezüglich der Bakterien für die aeroben und die anaeroben Verhältnisse in gleicher Weise, bezüglich der Pilze nur für die aeroben. In den anaerob behandelten Proben ist ihr Verhalten etwas abweichend. Auf der sauren Seite ist ihre absolute Zahl bedeutend kleiner und nimmt nach der alkalischen Seite immer ab. Hier ist also der zweite Höhepunkt im alkalischen Bereich nicht mehr vorhanden. Der Grund dafür dürfte in dem Sauerstoffmangel zu suchen sein, da die Pilze ausgesprochen aerobe Organismen sind. Daß sie auch in den

anaeroben Proben besonders auf der sauren Seite doch noch in relativ großer Zahl vorkommen, könnte vielleicht dadurch erklärt werden, daß anaerobe Verhältnisse eigentlich nicht von Anfang an geschaffen wurden, sondern erst im Laufe der Versuche durch den Verbrauch des Sauerstoffes durch die Mikroorganismen selbst allmählich entstanden sind.

Bemerkenswert ist, daß der Optimumbereich der Bakterien unter aeroben Verhältnissen nach der alkalischen Seite etwas breiter ist als unter anaeroben Bedingungen. In dem ersten Falle ist die Bakterienkurve bis $p_H = 8{,}65$ im Optimum und fällt dann stark ab. Bei den anaeroben Proben ist sie dagegen schon von dem p_H-Wert von 8,02 an in starkem Abstieg begriffen.

Bei neutraler Reaktion und in dem der neutralen Reaktion naheliegenden Bereich, sonst günstige Lebensbedingungen vorausgesetzt, befinden sich fast alle Mikrobenarten im Optimum. Dies gilt nicht nur für die mit der Plattenmethode erfaßbaren Bakterien und Pilze, sondern auch für diejenigen Gruppen der Mikroorganismen, die infolge ihrer besonderen physiologischen Ansprüche, wie langsamere Entwicklung, z. B. der nitrifizierenden oder stickstoffbindenden Bakterien u. a., durch die Plattenmethode nicht erfaßt werden können. Auch das Wachstum der Protozoen ist in diesem p_H-Bereich am günstigsten (8). In der Lebensgemeinschaft der Mikroben wird hier ein Gleichgewichtszustand auftreten, während bei den extremen p_H-Werten sich die anpassungsfähigeren Gruppen auf Kosten der anderen vermehren werden. Hier wird also der Gleichgewichtszustand gestört, wodurch natürlich in dem Boden ungesunde Verhältnisse geschaffen werden.

2. Die Ammoniakkurve läuft unter anaeroben Bedingungen gleichsinnig mit der Bakterienkurve, während unter aeroben Verhältnissen ihr Verlauf mit der Pilzkurve parallel geht. Die Anhäufung des Ammoniakgehaltes ist unter anaeroben Verhältnissen allein auf die Tätigkeit der betreffenden Bakterien zurückzuführen, unter aeroben Verhältnissen sind aber an diesem Prozeß auch die Pilze stark beteiligt. Der Ammoniakgehalt ist unter aeroben Bedingungen im neutralen Bereich viel niedriger als in dem sauren und alkalischen. Wenn wir die Kurve des Nitratgehaltes betrachten, finden wir gleich die Erklärung für diese Erscheinung. Im neutralen und diesem naheliegenden Bereich tritt nämlich eine merkliche Nitrifikation ein, wodurch ein großer Teil des Ammoniakgehaltes in Nitrate verwandelt wird. Ein anderer Teil der anorganischen Stickstoffverbindungen (Nitrate, Ammoniak) wird ferner von den Mikroben zum Aufbau ihrer Körper verwendet und so in organische Form umgewandelt.

Die Ursache des zweigipfeligen Maximums der Ammoniumkurve ist also auf die Lebensgemeinschaft der verschiedene physiologische Funktionen ausübenden Mikroben zurückzuführen. In dem sauren und in dem alkalischen Bereich, wo die nitrifizierenden Bakterien ihre Tätigkeit einstellen, also die Lebensgemeinschaft der Mikroorganismen gestört wird, finden wir die zwei Gipfel der Ammoniakkurve.

3. Bemerkenswert ist noch, wie Tab. 1 zeigt, daß die Zahl der anaeroben Bakterien bei den aerob gehaltenen Proben immer höher ist als bei den anaerob gehaltenen. Die Ursache dafür dürfte wahrscheinlich in dem Umstand zu suchen sein, daß im Dextrose-Agar nicht nur die obligaten, sondern auch die fakultativ anaeroben Bakterienarten, die in den aerob gehaltenen Proben in größerer Zahl vorhanden sind, sich entwickeln.

Da die mikroskopischen Bodenpilze bei der stark sauren Reaktion einerseits und bei der stark alkalischen Reaktion andererseits ein sehr üppiges

Wachstum zeigten, haben wir nicht nur ihre Mengenverhältnisse, sondern auch ihre Artzusammensetzung bestimmt. Hierbei wurden insgesamt folgende 18 Arten reingezüchtet.

Mucor hiemalis Wehmer.

Rasen grau. Sporangienträger verzweigt. Sporangien 50—70 μ groß, graubraun. Kolumelle oval. Sporen oval bis nierenförmig, 2—5 μ breit, 4—8 μ lang, einzeln farblos, gehäuft bräunlich grün.

Absidia cylindrospora Hagem.

Rasen erst weiß, dann grau. Ausläufer flache Bogen bildend. Sporangien braun, mit leicht zerfließender Wand, 20—35 μ breit. Kolumella halbkugelig, mit einem leicht abbrechenden Fortsatz. Sporen gleichmäßig zylindrisch, mit wenig abgerundeten Enden, 4—4,5 μ lang und 2—2,5 μ breit.

Mortierella polycephala Coemans.

Rasen weit ausgebreitet, locker, weiß, Sporangienträger entspringen büschelartig aus der Hyphe. Sporangien 30—40 μ groß, leicht zerfließend. Sporen kugelig oder oval, meistens 10—12 μ im Durchmesser, manchmal mit einem Fetttropfen. Feinstachelige 20 μ große Myzel- und Stielgemmen.

Mortierella pusilla Oudemans.

Rasen weiß, samtartig. Sporangienträger einzeln und auch büschelig, unverzweigt, Sporangien kugelig, klein, Sporen kugelig, 2,5—3 μ groß.

Penicillium turbatum Westling.

Dünne, graugrüne Rasen, Unterseite dunkelgelb. Typische Monoverticillium-Ausbildung, an dem Konidienträger bilden sich die ziemlich langen (8—10) Sterigmen, von wo sich dann die ovalen, 2,5 μ breiten, 3 μ langen Konidien abschnüren. Sklerotienbildung wurde beobachtet.

Penicillium restrictum Gilman and Abbott.

Graue Rasen mit hellem Rand; Unterseite farblos. Konidienträger als kurze, seitliche Äste der Hyphen besitzen kurze Sterigmen. Konidien kugelig mit einem Durchmesser von 2,5 μ.

Penicillium commune Thom.

Blaugrüne, etwas wollige Kolonien mit einem weißen Rande. Die Konidienträger sind typisch asymmetrisch, Konidien oval bis kugelig, 3—4 μ groß.

Penicillium expansum Link.

Grüne, im Alter grau-grüne Kolonien mit regelmäßigen konzentrischen Kreisen, Konidienträger asymmetrisch. Konidien rund bis oval, etwa 3 μ groß.

Penicillium luteum Zukal.

Weiche, etwas wollige gelb-grüne Rasen, die später durch das Auftreten von Sklerotien eine körnige Struktur aufweisen. Das Myzel ist gelblich, die Konidien sind grünlich. Die untere Seite des Rasens ist orangegelb. Konidienträger symmetrisch. Konidien elliptisch, im Durchschnitt 2,5 μ lang und 2,0 μ breit.

Trichoderma lignorum Tode.

Weiße, zarte Rasen, die nach dem Auftreten der Konidien grün werden. Die elliptischen 3 μ langen Konidien bilden an den verzweigten Konidienträgern kleine Köpfe.

Trichoderma Koningi Oudem.

Weiße, nach der Konidienbildung tiefgrün werdende Kolonien, mit rundlichen, etwas elliptischen Konidien, die an den verzweigten, kurzen Konidienträgern zu kleinen Köpfchen zusammengehalten werden.

Botrytis cinerea Pers.

Graubraune Rasen. Konidienträger aufrecht, am Ende mit einigen Auswüchsen, an denen sich auf kleinen Höckern die elliptischen 8—10 μ langen, 5—8 μ breiten Konidien bilden.

Verticillium terrestre Link.

Rasen weiß, mit einem rosa Ton. Konidienträger oben mit viergliedrigen Astquirlen, an denen sich die kugeligen, 1,5 μ großen Konidien bilden.

Acrostalagmus albus Preuß.

Rasen wollig, weiß. Konidienträger an der Spitze quirlig verzweigt. Konidien länglich ellipsoidisch, 1—1,5 μ breit, 3—3,5 μ lang, zu 8—10 durch Schleim zu einem Köpfchen verklebt.

Cladosporium herbarum Pers.

Schwarzgrüne Rasen. Konidien in Ketten, ellipsoidisch, ein- oder zweizellig. Myzel septiert.

Tilachlidium humicola Oudem.

Rasen wollig, weiß. Hyphen zu Koremien vereinigt. Aus diesem Hauptstiel verzweigen sich die aus Einzelhyphen bestehenden Äste, die die Konidienköpfchen tragen. Konidien eiförmig, ganz hellgrün, 4—6 μ lang und 2—4 μ breit.

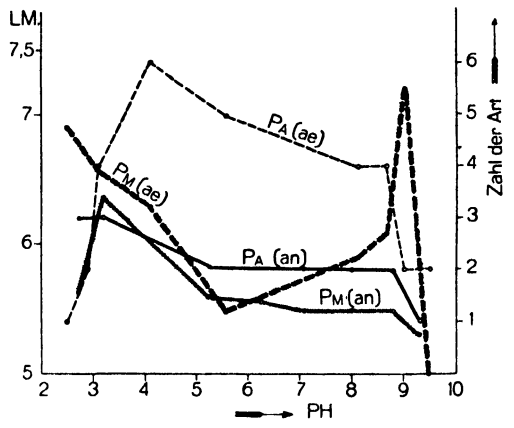


Abb. 2. Die Gestaltung der Zahl der Pilzarten (PA) und Pilzmengen (PM) in aeroben (ae) und anaeroben (an) Proben bei verschiedenen p_H-Werten. LM = Logarithmus der Zahl der Mikroorganismen.

Stysanus stemonites Pers.

Die grünbraunen Hyphen sind zu Koremien vereinigt, die eine braunschwarze Farbe aufweisen. Diese Träger endigen in einem zylindrischen Kopf, an welchem sich in Ketten die eiförmigen graugrünen, 6—8 μ langen und 4—5 μ breiten Konidien bilden.

Fusarium oxysporum Schlecht.

Fruchtlager gewölbt, etwas rosa. Konidien meist mit drei Scheidewänden, spitzig. Auch kleine, elliptische Konidien haben sich gebildet.

Tabelle 2. Die aus den einzelnen Proben gezüchteten Pilzarten in Prozenten.

Pilzart	aerob									anaerob					
	p_H-Werte														
	2,50	2,85	3,05	4,20	5,55	8,08	8,65	8,95	9,50	2,70	3,15	5,24	7,05	8,02	8,80	9,30
Phycomycetes.																
Zygomycetes.																
Mucor hiemalis Wehmer	—	—	—	—	—	20	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Abisidia cylindrospora Hagem	—	—	—	20	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Mortierella polycephala Coemans	—	—	—	20	15	—	40	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ pusilla Oudemans	—	—	—	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Ascomycetes.																
Penicillium turbatum Westling	—	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ restrictum Gilman and Abbott	—	90	—	—	15	50	—	—	—	—	70	—	—	—	—	—
„ commune Thom	100	—	—	—	20	15	—	—	—	25	15	70	50	65	65	100
„ expansum Link.	—	—	—	20	35	—	20	—	50	25	15	30	50	35	—	—
„ luteum Zukal	—	—	—	—	—	—	—	—	50	50	—	—	—	—	—	—
Fungi imperfecti.																
Mucedinaceae:																
Trichoderma lignorum Tode	—	—	20	—	—	15	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ Koningi Oudem	—	—	—	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	35	—
Botrytis cinerea Pers.	—	—	20	20	15	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Verticillium terrestre Link	—	—	20	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Acrostalagmus albus Preuß	—	—	40	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Dematiaceae:																
Cladosporium herbarum Pers.	—	—	—	—	—	—	—	40	—	—	—	—	—	—	—	—
Stilbaceae:																
Tilachlidium humicola Oudem.	—	—	—	—	—	—	—	60	—	—	—	—	—	—	—	—
Stysanus stemonites Pers.	—	—	—	—	—	—	20	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Tuberculariaceae:																
Fusarium oxysporum Schlecht.	—	—	—	—	—	—	20	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Das prozentuelle Vorkommen der einzelnen Arten in den verschiedenen Versuchsproben enthält die Tab. 2, und die Zahl jener Pilzarten, die bei den verschiedenen Graden der Bodenazidität vorgekommen sind, ist in der Abb. 2 zusammen mit ihren Mengenverhältnissen vergleichend dargestellt. Auf Grund dieser Zusammenstellung können wir im allgemeinen folgendes feststellen:

In den aeroben Proben verläuft die Entwicklung der Artenzahl im großen und ganzen entgegengesetzt zu der Kurve der Mengen. Die Artzusammensetzung erreicht ihren Gipfelpunkt bei etwa $p_H = 4$. Gerade dort, also im stark alkalischen bzw. in dem stark sauren Reaktionsbereich, wo die Zahl der Arten am geringsten ist, wurde je ein mengenmäßiges Maximum gefunden. Diese Erscheinung bildet einen Beweis dafür, daß bei diesen extremen Verhältnissen gerade die anpassungsfähigen Arten sich stark vermehren und die weniger resistenten Formen in ihrem Wachstum unterdrücken.

Die anaeroben Proben laufen mit den jetzt erwähnten Kurven gleichlaufend. Wir sehen übrigens in der Tab. 2, daß in den anaeroben Proben fast ausschließlich die Gattung Penicillium mit 4 Arten vertreten war.

Aus einer der alkalischen Proben haben wir noch Trichoderma Koningi reingezüchtet. Da hier Sauerstoffmangel aufgetreten ist, so konnte sich die anpassungsfähigere Art auch nicht üppiger vermehren.

Zum Vergleich haben wir auch eine Gartenerde mit derselben Versuchsanordnung angesetzt und nur chemisch untersucht. Die Ergebnisse enthält Tab. 3. Dieser Versuch zeigt dieselben Zusammenhänge, wie wir das bei dem vorherigen Versuch besprochen haben.

Tabelle 3.

Zugaben von		pH	mg NH_3–N	mg NO_3–N
ccm H_2O	ccm n/H_2SO_4 bzw. n/NaOH		je 100 g Boden	
		Aerobe		
5	18 H_2SO_4	5,40	3,5	12,5
9	14 „	5,59	2,0	18,1
13	10 „	6,07	1,5	20,9
19	4 „	6,45	1,1	24,9
23	0	6,88	1,2	20,8
19	4 NaOH	7,78	2,0	19,5
13	10 „	18,31	2,5	17,5
9	14 „	8,58	13,9	6,1
5	18 „	8,72	17,9	1,1
		Anaerobe		
0	18 H_2SO_4	5,50	8,2	0
4	14 „	6,05	10,8	0
8	10 „	6,38	13,3	0
14	4 „	6,70	16,2	0
18	0 „	7,08	13,0	0
14	4 NaOH	7,47	12,1	0
8	10 „	7,81	11,0	0
4	14 „	8,28	10,0	0
0	18 „	8,55	9,3	0
Anfangswerte (K):		7,01	2,7	4,5

Da die durch die Mikrobentätigkeit entstandenen Produkte eigene und verschiedene Reaktionen zeigen, so ist es ganz natürlich, daß die biologischen Prozesse in der Reaktion des Bodens Änderungen hervorrufen. Abb. 3 zeigt uns die durch die Zugabe von gleichen Mengen n Schwefelsäure und n Natronlauge erzielten p_H-Werte in dem als Versuchsböden verwendeten Waldboden (Tab. 1) und der Gartenerde (Tab. 3). Wir sehen hier, daß die gleichen Säure- bzw. Laugemengen in dem Waldboden, dessen Pufferwirkung viel kleiner ist, eine bedeutend größere Reaktionsänderung verursacht haben als in der große Pufferwirkung besitzenden Gartenerde. Es ist bemerkenswert, daß die p_H-Werte der anaeroben Proben nach der sauren Seite bei beiden Böden immer höher und nach der alkalischen Seite immer niedriger waren als bei den gleichbehandelten aeroben Proben. Es ist also ohne weiteres festzustellen, daß die biologischen Prozesse unter anaeroben Bedingungen sowohl im alkalischen als auch im sauren Bereich eine größere Pufferwirkung ausüben können. Unter anaeroben Verhältnissen ist die mikrobiologische Zersetzung der organischen Verbindungen unvollkommen, es werden hier bei der Eiweißzersetzung neben Ammoniak auch Aminosäuren, bei der Zellulosezersetzung

neben CO_2 auch viele organische Säuren gebildet. Es werden also im Laufe der anaeroben Ammonifikation metabolische Produkte erzeugt, die gegen Säuren und Basen gleicherweise gepuffert sind.

Wenn man jetzt in Betracht zieht, daß die Mikroorganismen ihre Kolonien in einem kleinen Raum des Bodens bilden, so wird man ohne weiteres verstehen können, warum die ammonifizierenden Mikroben einen viel weiteren p_H-Bereich ihrer Lebenstätigkeit entfalten können als die einseitig nur säureproduzierenden nitrifizierenden Bakterien. Die Lebensgemeinschaft der Mikroorganismen wird uns jetzt auch erklären, daß die in Reinkultur gegen die Reaktion stark empfindlichen Mikroorganismen, wie z. B. nitrifizierende Bakterien, Azotobakter usw., im Boden ihre Tätigkeit in viel weiteren Grenzen ausüben können.

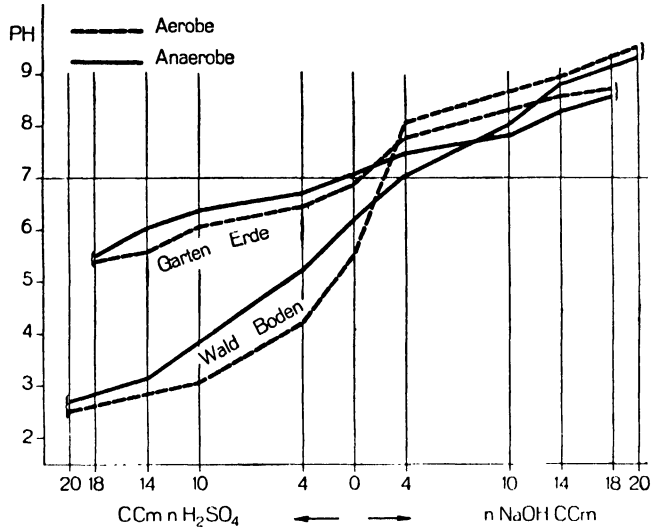


Abb. 3. Die biolgisch bewirkte Gestaltung der p_H-Werte bei einer Gartenerde und bei einem Waldboden nach Zugabe von verschiedenen Mengen von n H_2SO_4 bzw. n NaOH unter aeroben und unter anaeroben Verhältnissen.

Die Mikroben bilden ihre Kolonien in den kleinen Hohlräumen des Bodens, wo sie infolge ihrer Tätigkeit auch in der Reaktion des Bodens — je nach der Natur der gebildeten Produkte — gewisse Änderungen hervorrufen. Sie erzeugen also in ihren kleinen Räumen mit der heutigen p_H-Messungstechnik nicht meßbare eigene Reaktionen, welcher Umstand wahrscheinlich dazu beitragen wird, daß sie auch unter ungünstigen extremen Aziditätsverhältnissen ihre Lebensbedingungen finden. So können wir annehmen, daß z. B. die ammonifizierenden Bakterien in dem stark sauren und stark alkalischen Gebiet die Reaktionsverhältnisse in ihrer kleinsten Umgebung etwas begünstigen und dadurch für sich selbst immer bessere Lebensverhältnisse schaffen. Wo aber die Umweltfaktoren ein gesundes Gleichgewicht zwischen den verschiedene physiologische Funktionen ausübenden Mikroorganismengruppen sichern, wird der evtl. schädlich wirkenden einseitigen Anhäufung einzelner Abbauprodukte durch diese Lebensgemeinschaft Einhalt getan.

Zusammenfassung.

1. Bei den verschiedenen Reaktionszuständen des Bodens zeigen die Bakterien und die mikroskopischen Pilze in ihrer Lebensgemeinschaft einen gut wahrnehmbaren Kampf um ihr Dasein. Diese Erscheinung können wir in den aeroben und in den anaeroben Proben gleichwohl beobachten. Unter aeroben Bedingungen zeigten die anpassungsfähigeren Pilze deutlich wahrnehmbare zweigipfelige Wachstumskurven, je einen Gipfel in dem sauren und einen in dem alkalischen Bereich. Die Bakterien haben dagegen nur einen Wachstumsgipfel, und zwar diesen auch nur in dem annähernd neutralen Bereich, gezeigt. Unter anaeroben Bedingungen trat dann das Pilzwachstum zurück und so konnten sich hier die Bakterien allein vermehren.

2. Auch die Ammonifikation zeigt charakteristische zweigipfelige Maxima, wobei der eine Gipfel in dem sauren und der andere Gipfel in dem alkalischen Bereich wahrzunehmen war. Die Ursache dieser Erscheinung dürfte auf den Umstand zurückzuführen sein, daß die Ausübung der physiologischen Funktion der verschiedenen Gruppen von Mikroorganismen, falls sie in einer geschlossenen Lebensgemeinschaft leben, je nach dem jeweiligen Aziditätsgrad sich verschieden gestalten wird. Gerade in dem sauren und in dem alkalischen Bereich, wo das harmonische Zusammenwirken dieser Lebensgemeinschaft am meisten gestört wird, finden wir die beiden Gipfel der Ammonifikation.

3. Bemerkenswert ist, daß die mikroskopischen Pilze unter sonst gleichen Versuchsbedingungen in dem extremen Aziditätsbereich eine üppige mengenmäßige Entwicklung, dabei aber einen Rückgang ihres Artenreichtums gezeigt haben. In dem stark sauren bzw. im stark alkalischen Bereich sind nur wenige Arten vorhanden, die sich diesen extremen Verhältnissen anpassen konnten. Die übrigen, weniger resistenten Arten werden durch diese dann unterdrückt.

4. Unter anaeroben Bedingungen weisen die biologischen Prozesse in humosen Böden sowohl im sauren als auch im alkalischen Reaktionsgebiet eine viel größere Pufferwirkung auf als unter aeroben Bedingungen (Abb. 3).

Literatur.

1. Hwang, Y., Stickstoffumsetzungen und Aziditätsänderungen in verwesender Waldstreu und in humosen Böden. Dissert. München 1936. S. 75. (Ein zusammenfassender Auszug gemeinsam, mit Dr. H. Sallinger, wird voraussichtlich demnächst in einer Fachzeitschrift erscheinen.) — 2. Arrhenius, O., Kalkfrage, Bodenazidität und Pflanzenwachstum. Leipzig (Akad. Verlag) 1926. S. 29. — Mevïus, W., Reaktion des Bodens und Pflanzenwachstum. Freising-München (F. P. Datterer) 1927. S. 62. — 3. Fehér, D. und Frank, M., Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß der Temperatur und des Wassergehalts auf die Tätigkeit der Mikroorganismen des Bodens. (Arch. Mikrobiol. Bd. 8. 1937. S. 249.) — 4. Fehér, D., Untersuchungen über die Mikrobiologie des Waldbodens. Berlin (J. Springer) 1933. S. 12. — 5. Waksman, S. A., Methode der mikroskopischen Bodenforschung. (Abderhalden, Handb. d. Biol. Arbeitsmethode. XI. Bd. 3. S. 741.) Berlin (Urban & Schwarzenberg) 1928. — Rabenhorst, L., Kryptogamenflora von Deutschland, Österreich und der Schweiz. Pilze. — Lindau, G., Die mikroskopischen Pilze. Berlin 1922. — Niethammer, A., Die mikroskopischen Bodenpilze. Gravenhage 1937. — Thom, Ch., The Penicillia. Baltimore 1930. — Thom, Ch., and Church, M. B., The Aspergilli. Baltimore 1926. — Zycha, H., Mucorineae. Leipzig 1935. — Hagem, O., Untersuchungen über norwegische Mucorineen. Christiania 1910. — Linnemann, G., Beitrag zu einer Flora der Mucorinaeae Marburgs. (Flora. Bd. 30. 1936. S. 176.) — 7. Hwang, Y., Über die Möglichkeiten der logarithmischen Darstellung der Mikroorganismenzahlen. (Arch. f. Mikrobiol.) — 8. Waksman, S. A., Principles of Soil Microbiology. London (Bailliere, Tindall & Cox) 1931. S. 642.

Nachdruck verboten.

Propionibacterium rubrum from dairy cheese.

[Biotechnical-chemical Laboratory, Royal Technical College, Copenhagen.]

By **Lubow A. Margolena** and **P. Arne Hansen.**

Red varieties of propionic acid bacteria have been first mentioned by Thöni and Allemann (1908, 1910), who considered them to be pigment-producing forms of the organisms described by v. Freudenreich and Orla-Jensen (1906) as Bact. acidi propionici. Van Niel (1928) established two red species in his monograph on the propionic acid bacteria, giving a thorough description of both, namely Propionibacterium rubrum and Propionibacterium Thönii separated from one another by their behaviour towards mannitol and raffinose.

Various red strains of propionic acid bacteria have now and again been isolated from Emmental cheese, including the red cultures of Thöni and Allemann. Van Niel isolated a red propionic acid organism from butter milk, and other dairy products may also be expected to harbour similar forms. Some time ago, in September 1936, a pigmented culture was isolated from a Danish dairy cheese of the Gouda type which, to be sure, had been kept for six weeks at 25° C. The high keeping temperature had most likely been in favour of the development of the organism here mentioned. The culture was observed for some length of time in the laboratory and proved to be a strain of Propionibacterium rubrum Van Niel. For the sake of comparison cultures from reliable sources were procured namely Dr. Van Niel's strain No. 23 which is described in his monograph, and two pigmented strains of propionic acid bacteria from the collection of Dr. Sherman: No. 13 and No. 14[1]).

The observations, some of which confirm earlier work, while others make the descriptions more complete, are given below.

Isolation.

As a rule the isolation of pure cultures of propionic acid bacteria seems to raise various difficulties, at least judging from the literature, e. g. v. Freudenreich and Orla-Jensen (1906), Sherman (1921) and Van Niel (1928). In the present case beautiful rusty-red spots, apparently representing colonies of the organism were found in a well-developed state in the cheese. Tubes of calcium lactate broth, which contained small tubes (Durham tubes) were inoculated with a platinum loop from the red spots. The tubes were incubated anaerobically at 30° C., and when growth was obtained, the cultures were purified, after several transfers through sodium lactate broth, by means of shake cultures (Burri tubes) in casein digest agar with $^1/_4$ per cent glucose. It may be of interest to mention that nothing but uniform red colonies developed even in the first dilutions.

[1]) We take the opportunity here to express our appreciation to Dr. C. B. van Niel, Pacific Grove, California and Dr. J. M. Sherman, Ithaca, N. Y. for courteously placing their strains at our disposal.

The cultures isolated were slow growing, requiring heavy inoculations, and seemed to tolerate oxygen poorly in the early period of cultivation. After several weeks' incubation under anaerobic conditions at 30° C. the cultures became less sensitive to oxygen, and at last they behaved as ordinary facultative aerobes. Orla-Jensen et al. (1936) have already observed this phenomenon, both in propionic acid bacteria and in Bact. bifidum. Several individual strains were carried at the start and examined for some time, but they all proved to be identical; as was, indeed, to be expected; and finally duplicates were discarded. The stock strain is called R 20.

Methods.

The following media were used:

1. Autolyzed yeast containing ½% nitrogen . . . . . 1000 ml.
   Sodium lactate, 60% . . . . . 20 g
   pH before sterilization 6,8.

2. Peptic casein digest containing ½% nitrogen . . . . . 750 ml.
   Autolyzed yeast containing ½% nitrogen . . . . . 250 ml.
   NaCl . . . . . 2 g
   K_2HPO_4 . . . . . 2 g
   $MgSO_4$, 7 H_2O . . . . . 1 g
   Sodium lactate, 60% . . . . . 20 g
   pH as above.

3. Peptic casein digest containing ½% nitrogen . . . . . 1000 ml.
   NaCl . . . . . 5 g
   K_2HPO_4 . . . . . 2 g
   Calcium lactate . . . . . 20 g
   pH before sterilization 5.8.

The last formula is a modification of Henneberg's medium as given by Bernhauer (1936). When studying the fermentation of various polyvalent alcohols, carbohydrates, and glucosides, the lactates were replaced by 10 g per liter of the substance in question; esculin was an exception, as only 5 g per liter could be added of this more sparingly soluble compound.

It is most consistent to determine the endpoint of fermentation with a liberal surplus of the fermentable substance; the medium should then contain about 20 g sugar per liter. However, even with 10 g a surplus is present in most cases. The saving of material and consequently reduced cost of the experiment is, of course, a factor of some importance and in the present case the use of a smaller amount of fermentable substances seems justified.

Volatile acid production was studied in cultures grown in 1-liter Erlenmeyer flasks containing 750 ml. medium. After the fermentation was completed, 200 ml. were removed and used for steam distillation, 10 ml 4 N phosphoric acid being added. At least 900 ml. were collected, neutralized with barium hydroxide and evaporated to a suitable quantity. The acids were liberated by the exact quantity of sulfuric acid, and 110 ml. thereof were distilled according to the method of Duclaux (1900).

Fermentation characters were observed both in media 1 and 2 (of course, without sodium lactate), and with the carbohydrates added both before and after sterilization in 10 ml. quantities.

For anaerobic cultures the tubes or flasks in question were incubated in Novy jars which were evacuated.

Description of the organism isolated.

The cells occur singly or in chains, and like other propionic acid bacteria exhibit a high degree of pleomorphism. As already observed by Thöni and Allemann (1908, 1910) the cell shape depends on the medium used, as well as on the presence or absence of free oxygen and the acidity of the substrates, Van Niel (1928).

In liquid media under semi anaerobic and anaerobic conditions it appears in the form of a streptococcus or a short rod. In agar stabs the cultures resemble those grown in liquid media, while on gelatine plates, even under anaerobic conditions, irregularly segmented rods appear, increasing in peculiar involution forms in the presence of air. On potato slants, irrespective of the presence or absence of free oxygen, large yeast like, almost mould like, and dumbbell shaped forms develop.

In milk cultures the temperature is the decisive factor in determining the shape of the cell. At 20° C. short rods with vague outlines, but definite granules and beautiful capsules are developed; at 30° C. and 37° C. these fail to appear, the cells increase in length, especially at 37° C.

All in all the observations on the morphology may be summarized to the effect that in the presence of free oxygen the cells increase in size, the granules in numbers, and the cell shape becomes more irregular; all of which facts indicate the inhibiting action of oxygen upon the cell division.

The preparations were air-dried, fixed in 95% alcohol, and stained with methylene blue. The streptococci are $0.6 \times 0.8\ \mu$, or somewhat larger, rod-shaped cells, $0.6 \times 1—3\ \mu$, or longer, their with depending on the shape. Extreme forms may reach a length of $4—6\ \mu$.

Cultural characteristics.

Both calcium lactate and sodium lactate media have been used in the beginning, but sodium lactate which was introduced by Sherman (1921) proved to be so much superior that the calcium lactate substrate was abandoned altogether in the last part of the work. Gas production is intenser in the sodium lactate than in the calcium lactate medium, and while gas is produced both in the presence and absence of oxygen in the sodium lactate, no gas or almost none is formed in calcium lactate under aerobic conditions.

The organism described, of course, grows well in casein digest glucose agar, in casein digest glucose gelatin and in media 1 and 2 with glucose instead of lactate. Potato slants and milk are also favourable media. R 20 furthermore grows in certain nitrogenous media, e. g. in peptone Witte, without the addition of either lactate or carbohydrates. In this connection it should be mentioned that Shaw and Sherman (1923) found that their Bact. acidi propionici among other substances could produce carbon dioxide, propionic acid and acetic acid from peptone.

Milk is coagulated at 30° C. and 37° C. within two or more days, the process is hastened if autolyzed yeast is added; but at 20° C. milk is not coagulated within a week.

Nitrate is not reduced. There is no liquefaction of gelatin.

Catalase is produced very intensely both by cultures growing aerobically and anaerobically, and in all the media described above. This curious fact, that an anaerobic organism produces abundant catalase, is rather an exception, and not in harmony with the commonly accepted notion that

Table 1. Acid produced per 100 cc.

Strain No.	Medium	Carbohydrate and nitrogen source sterilized separately or together	Glycerol	Xylose	Arabinose	Rhamnose	Sorbitol	Mannitol	Fructose
R–20	1	separately	37.0	7.0	6.5	1.5	8.0	31.5	37.0
R–20	1	together	48.0	3.0	0.0	4.0	8.0	33.0	34.0
R–20	2	separately	51.0	0.0	9.0	9.0	13.0	43.0	41.0
23	1	separately	36.5	3.0	8.0	5.5	9.5	37.0	40.0
23	1	together	39.5	8.0	1.5	0.5	14.5	38.5	37.0
23	2	separately	38.0	0.0	0.0	0.0	0.0	23.0	34.0
14	1	separately	36.5	2.5	8.0	2.5	10.0	40.0	45.5
14	1	together	49.0	10.0	0.0	10.5	18.5	45.0	60.0
13	1	separately	36.5	1.5	9.5	6.0	4.0	3.0	11.5
13	1	together	47.5	23.5	7.5	6.5	3.5	0.0	11.5

[1]) 10 cc. were actually titrated, the results in the table were obtained by mul-

hydrogen peroxide accumulation is the chief inhibiting cause when anaerobic bacteria are exposed to atmospheric air. Sherman (1926) has emphasized the striking difference in this respect between propionic acid bacteria and other anaerobic organisms.

Peroxidase is formed. The test was carried out on a bacterial suspension prepared as indicated on p. 113. The reagent used was a 1% solution of benzidine in acetic acid (20%) to which hydrogen peroxide had been added. It is advisable to destroy the catalase beforehand by heat if a strong reaction is desired.

Vigorous growth takes place between 15° C. and 37° C.; the largest crop of bacteria is obtained round 30° C.

In agreement with other propionic acid bacteria the strain R 20 is Gram positive, asporogenous, non-motile and polymorph.

Sugar fermentation.

Fermentation studies of carbohydrates, polyvalent alcohols, and glucosides were carried out by inoculating 10 cc quantities of media containing 1% of the test substance. As nitrogenous food served either autolyzed yeast or a mixture of this and peptic casein digest, just as in media 1 and 2, p. 2. The cultures were incubated at 30° C. for 10—14 days and then titrated with 1/4 N NaOH using either phenolphthalein or thymol blue as an indicator. The latter was in many cases very helpful when the red pigment or the colorization of the medium made it difficult to observe the colour change of phenolphthalein.

When carbohydrates, especially xylose, arabinose, and galactose, are sterilized together with peptone media, chemical changes take place. As a precautionary measure the fermentation studies were carried out both in media where the carbon source and the nitrogenous food had been sterilized apart, and in such where they were sterilized together.

The figures for media 1 and 2 differ somewhat, yet not sufficiently to create any difficulties in deciding which substances are fermented and which are not, at least not when smaller values are discarded as insignificant. However, the sterilization of the carbohydrates, particularly the pentoses,

media expressed in cc. N/4 NaOH[1]).

Glucose	Mannose	Galactose	Sucrose	Maltose	Lactose	Raffinose	Inulin	Dextrin	Starch	Salicin	Esculin
45.5	40.0	40.0	33.0	23.0	28.5	17.5	1.5	18.5	19.0	24.0	13.0
37.0	36.0	34.5	42.0	32.0	46.5	33.0	0.0	18.5	23.5	28.5	11.5
44.0	36.0	48.0	35.0	40.0	39.0	40.0	9.0	13.0	17.0	17.0	8.0
41.0	—	40.0	52.5	23.0	38.5	13.5	4.0	10.5	4.0	20.0	10.5
35.5	37.0	36.0	47.5	25.0	47.5	41.5	6.0	2.0	9.5	22.0	5.0
48.0	77.0	44.0	71.0	17.0	60.0	51.0	2.0	5.0	9.0	15.0	16.0
46.0	33.0	41.5	47.5	14.0	13.0	9.5	16.0	7.5	10.0	16.0	11.0
53.5	44.5	35.0	47.0	15.5	47.0	46.5	10.0	8.5	11.5	4.0	4.5
44.5	29.0	27.0	8.5	10.0	30.5	11.5	0.5	10.5	6.5	5.0	4.0
29.0	24.0	31.0	11.0	14.0	32.5	10.0	0.0	5.0	10.0	8.5	1.5

[1]) tiplying the titration figures by 10.

apart from the nitrogen source, must be preferred according to these data. The figures may deviate considerably with the two sterilization procedures in the case of pentoses and polysaccharides. When the data are compared with the figures in Table 1 of Van Niel (1928) the following observations are made: No. 23 has preserved its characters during the 10 years gone by with remarkable reproducibility except for one minor change, the ability to ferment esculin. R 20 agrees fairly closely with No. 23 except for its ability to attack starch; however, the degree of fermentation of this carbohydrate is never considerable. No. 14 gives the same fermentation reactions as No. 23, while No. 13 does not ferment mannitol and attacks raffinose but sparingly. No. 13 would be Propionibacterium Thönii according to the classification of Van Niel.

Volatile acid production.

Media 1 and 2 were used in our volatile acid studies. The lactates, glycerol, or carbohydrates were sterilized together with the medium. The incubation of the culture media was in some cases carried out in an evacuated large Novy jar, in Table 2 indicated by the word "anaerobic". No significant difference could be noticed between this and ordinary incubation, possibly because the layer in the Erlenmeyer flask was deep enough anyhow to ensure sufficiently anaerobic conditions for Propionibact. rubrum.

Table 2. Proportion Mol. Propionic acid/Mol. Acetic acid produced under various conditions.

	Mol. propionic acid / Mol. acetic acid			
	Medium 1		Medium 2	
	anaerobic	aerobic	anaerobic	aerobic
Lactate	4:1	5:1	5:1	3:1
Glucose	3:1	3:1	3:1	3:1

Table 3. Proportion Mol. Propionic acid/Mol. Acetic acid produced in medium 2 from various sources of carbon ("aerobic" cultures).

	Mol. propionic acid / Mol. acetic acid
Glycerol	5:1
Glucose	3:1
Galactose	3:1
Lactose	2,5:1
Starch	4:1
Medium without carbohydrate added	2,5:1

Much attention has been paid by most previous workers to the ratio between propionic acid and acetic acid. The classical equation for the formation of propionic acid from lactic acid calls for a proportion 2/1.

3 Mol. lactic acid → 2 Mol. prop. acid + 1 Mol. acetic + CO_2 + H_2O.

Recent work has often shown large deviations from this scheme. The presence of nitrogenous compounds, e. g. aspartic acid, diminishes the proportion [Van Niel (1928)]. This author shows also that the species may have its individual influence. Thus Propionibact. Thönii is supposed to give 5/1 in glucose and Propionibact. rubrum 3/1. With Glycerol a high yield of propionic acid is produced; our findings in table 3 confirm this. In glucose working with Propionibact. arabinosum Wood and Werkmann (1936) found ratios as high as 14.7. They furthermore suggested the formation of succinic acid by condensation of acetic acid and an intermediate dissimilation of succinic acid to propionic acid and carbon dioxide, and they have presented extensive data in support of their view.

The ratios given in Tables 2 and 3 are higher than 2/1, but with the more recent knowledge referred to above this is not to be wondered at, and the "ideal" equation does not pay regard to the numerous complications of the propionic acid fermentation. The ratio obtained in lactose is slightly different from that in glucose. v. Freudenreich and Orla-Jensen (1906) already noticed that the proportion of acetic acid to propionic acid increases in lactose. For this reason the fermentation of galactose was investigated, but the ratio between the volatile acids was the same as in the case of glucose.

Pigment Production.

The depth of the colour of the pigment of R 20 depends very much upon the kind of medium used and especially on the source of carbon. The presence or absence of free oxygen is absolutely immaterial in this respect. In lactate media, no matter whether liquid or solidified by agar, the pigment appears simultaneously with abundant growth. The same behaviour is seen on potato slants. Glucose added to liquid media inhibits pigmentation while it does not seem to have this effect in solid media. According to their influence on the pigment production the fermentable substances may be divided into three groups. Medium 1 and 2 were used, and the substances tested were sterilized in one case seperately and in another experiment together with the nitrogenous basic medium.

Group 1: glycerol, glucose, maltose[1]). No development of pigment, although considerable growth takes place, judging by the amount of sediment, turbidity, and by the large quantity of acid produced.

Group 2: sorbitol, xylose, arabinose, rhamnose, mannose (maltose)[1]), inulin, esculin. In these the colour is confined to the sediment. Mannose and maltose are strongly fermented, the other compounds give only small amounts of acid, if any.

Group 2 a: dextrin, starch, salicin. The sediment is blood red and the medium transparent. These three are fermented moderately.

Group 3: fructose, galactose, lactose, sucrose, raffinose. In these the sediment may or may not necessarily be coloured but a red band frequently appears immediately or somewhat above the sediment. The medium itself is more or less cloudy and reddish. Considerable quantities of acid are formed.

Apparently there is some, though not a direct relationship between acid production and pigment. This can be generalized by saying that scanty or no acid production are associated with high pigmentation, while the reverse is not true. (High acid production is not necessarily associated with faint pigmentation.)

No. 23 and No. 14 agreed in a general way with R 20 as far as colour production is concerned.

The present work indicates that the propionic acid strains here discussed are inhibited in their pigment production when certain carbohydrates and related compounds are present, e. g. glycerol, glucose, maltose. Reid (1937) p. 383 in his work on bacterial pigmentation states that "No pigment was produced when the bacteria were grown under anaerobic conditions of any sort". This finding is at variance with the observations on the behaviour of Propionibacterium rubrum described above.

Nitrogenous food offered as yeast autolysate, as casein digest, or as peptone Witte was in all cases suitable for pigment production.

The chemistry of the pigment of Propionibacterium rubrum has never been closely investigated. Thöni and Allemann (1910) found it insoluble in water, alcohol, ether, benzene and chloroform, and resistant to acid and alcali. Nevertheless they thought that the pigment was related to carotene or lutein.

The pigment of R 20 was studied and compared with the pigment of strain No. 23 and No. 14. For this purpose flat bottles with 50 cc glucose agar solidifiëd in a layer 5—10 mm. deep were inoculated with a suitable suspension of the organism in question and incubated for 5 or more days at 30° C. Sterile physiological saline was then poured over the surface, and as much growth as possible was washed off. The bacteria were separated from the saline on a centrifuge and washed twice. During this procedure a curious phenomenon was observed. The bacterial mass of our culture was always found to consist of two layers, one usually narrow, red layer above and one broad cream coloured below. In Dr. Van Niel's culture the order, strangely enough was reversed. In Dr. Sherman's strain No. 14 the layers were separated in the same order as in R 20. By several further processes of separation on the centrifuge each layer could be purified, and at last a strongly pigmented and an almost unpigmented fraction resulted. Both in case of R 20 and No. 23 microscopic examination revealed no diffe-

[1]) The action of maltose is variable and the pigment was not present in all instances.

rence between the cells in the two layers. Plates were poured from the cream layer and from the red layer of R 20, but the uniform spherical colonies which developed showed no difference macroscopically or microscopically. The Rate of respiration in the two layers was also studied. For technical details the reader is referred to a paper by Hansen (1938). The uptake of oxygen was studied in the following mixture:

1 ml. bacterial suspension + 1/4 ml. M/5 Na lactate + 1/4 ml. water + 1/2 ml. M/15 phosphate buffer pH = 5,9.

The amount of oxygen absorbed per hour at 37° C. per mg. bacteria was 41 mm^3 for the white layer and 42 mm^3 for the red layer. Practically identical rates of respiration were thus found and the red pigment seems not to play any part in the respiration process.

The bacterial mass was treated with various solvents: 96% alcohol, acetone, ether, gasoline, benzene, chloroform and carbon disulphide, but no colour could be extracted. The five latter solvents were used also after a previous treatment with acetone, but even then the pigment was not extracted. Sodium hydroxide, hydrochloric acid, and sulfuric acid, all 4 N failed to destroy the pigment.

These findings do not seem to be reconcilable with the idea of Thöni and Allemann (1910) that the colouring matter is a carotenoid. When a saline suspension of the organism is whirled at 5 000 revolutions per minute for a period long enough to separate the bacterial bodies from the liquid the supernatant solution is still coloured; when this is passed through an N Berkefeld candle, a faintly yellowish filtrate is obtained and a beautiful deep red covering film on the filter surface. This pigmented material seems to be almost free from bacterial bodies. It consists either of debris or more probably of some cementing material between the cells. It may be mentioned here that when smears are made from cultures grown on potato slants some yellowish amorphous material is seen between the cells.

It is hardly possible to form an exact idea from these observations, but the pigment is not of a fatty nature.

Classification.

According to the classification of Van Niel our culture R 20 is a strain of Propionibacterium rubrum, probably similar to Thöni and Allemann's Bact. acidi propionici var. rubrum. It differs from Jensenii by its characteristic development of a red pigment both on surface and in stab cultures. The pigment of No. 23 differs macroscopically from R 20 and No. 14 in one respect, inasmuch as it forms a less shiny and less moist surface growth on agar and is somewhat wrinkled. Yet these differences are of such small importance that no emphasis should beplaced on them.

Van Niel divided the cultures of Thöni and Allemann into two species on the basis of their ability to ferment raffinose and mannitol, and the ratio of propionic acid to acetic acid produced in a yeast extract glucose medium. Propionibact. rubrum attacks raffinose and mannitol, and the ratio of propionic to acetic acid is 3/1. Propionibact. Thönii is not capable of attacking the two carbohydrates, and it produces 5 parts propionic to 1 part acetic acid.

R 20 agrees closely with Van Niel's description of rubrum, except that the strain ferments starch to some extent and in this respect rather resembles technicum. The question may, of course, be raised whether pigment production is a sufficiently important character to establish a species by. This question can only be answered by studying a large collection of pigmented strains, but as rubrum is a rather infrequent bacterium, such a collection will be difficult to obtain.

Summary.

Propionibacterium rubrum van Niel has been isolated from a dairy cheese in which distinct colonies had been formed. A description of the species and pigment production is given.

The culture can be separated by means of the centrifuge in a pigmented and an unpigmented portion. The pigment is insoluble in the ordinary fat solvents, and is not, as previously assumed, a carotenoid. It is of no importance in the oxygen uptake of the organism.

References.

Duclaux, E., Traité de microbiologie. Vol. 3. p. 385—395. Paris (Masson) 1900. — v. Freudenreich, E., and Orla-Jensen, S., Über die im Emmentalerkäse stattfindende Propionsäuregärung. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. Bd. 20. 1906. S. 320—338.) — Thöni, J., and Allemann, O., Über rote Punkte in Emmentalerkäsen, hervorgerufen durch Bacterium acidi propionici var. ruber. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. Bd. 22. 1908. S. 46—52.) — Über das Vorkommen von gefärbten, makroskopischen Bakterienkolonien in Emmentalerkäsen. (Zentralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 25. 1910. S. 8—30.) — Sherman, J. M., The cause of eyes and characteristic flavor in Emmental or Swiss cheese. (Journ. Bact. Vol. 6. 1921. p. 379 bis 392.) — Shaw, R. H., and Sherman, J. M., The production of volatile fatty acids and carbon dioxid by propionic acid bacteria with special reference to their action in cheese. (Journ. Dairy Sc. Vol. 6. 1923. p. 303—309.) — Sherman, J. M., The production of catalase by an anaerobic organism. (Journ. Bact. Vol. 11. 1926. p. 417—418.) — Van Niel, C. B., The propionic acid bacteria. Haarlem 1928. — Bernhauer, K., Gärungschemisches Praktikum. Berlin (Springer) 1936. S. 34. — Orla-Jensen, S., Orla-Jensen, A. D., and Winther, O., Bacterium bifidum und Thermobacterium intestinale. (Zentralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 93. 1936. S. 321—343.) — Wood, H. G., and Werkman, C. H., Mechanism of glucose dissimilation by the propionic acid bacteria. (Biochem. Journ. Vol. 30. 1936. p. 618—623.) — Reid, R. D., Studies on bacterial pigmentation. 2. Growth requirements. (Zentralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 95. 1937. S. 379 bis 389.) — Hansen, P. A., The respiration of the rod-shaped lactic acid bacteria. (Zentralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 98. 1938. S. 289—297.)

Nachdruck verboten.

Der Pflanzenkrebs und sein Erreger Pseudomonas tumefaciens.

VI. Mitteilung.

Asparagus sprengeri Rgl. und Phaseolus vulgaris L. als Wirtspflanzen.

[Aus der mikrobiologischen und chemischen Abteilung der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem.]

Von **C. Stapp.**

Mit 6 Abbildungen im Text.

In der Phytopathologie dürfte kaum ein Mikroorganismus bekannt sein, dessen Wirtspflanzenkreis sich ständig derart vergrößert, wie es bei Pseudomonas tumefaciens (Sm. et Towns.) Stev. der Fall ist. So ist z. B. über sein Vorkommen berichtet worden: 1930 von I. H. Muncie (12) an Rumex crispus L. und Rheum raponticum L., 1931 von Miles und J. G. Brown (11) an Juniperus sabina L. und von Emery (6) an Ulmus spec., 1932 von A. J. Rainio (13) an Salix caprea, 1933 von J. G. Brown und M. M. Evans (1) an Cupressus arizonica Gr. und im gleichen Jahre (2) an Carnegia gigantea, 1935 von C. O. Smith (14) an Libocedrus decurrens und 1936 von Stapp (15) an Dahlia variabilis Desf.

M. S. Lacey (9) erwähnte 1936, daß es ihr gelungen sei, aus Wucherungen einer Anzahl von Pflanzen, darunter auch Asparagus (die Spezies ist nicht angegeben) ein Bakterium zu isolieren, das an Lathyrus odoratus Verbänderung (fasciation) hervorzurufen vermochte. Der Erreger erinnere in seinem Verhalten, auf der Außenseite des Gewebes schleimige Bakterienüberzüge zu bilden, an Pseud. tumefaciens. In einer früheren Veröffentlichung (8) über Stämme, die Verbänderungen an Lathyrus odoratus bewirken, wird angegeben, daß diese Bakterien Gram-positiv und unbeweglich seien. Sie würden demnach mit Pseud. (Phytomonas) fascians (16) übereinstimmen.

An Asparagus sprengeri haben N. A. Brown und F. Weiß 1937 (4) Tumoren festgestellt, die, wie sie annehmen, entstanden seien als stark deformierte Sprosse vom Wurzelhals aus oder wenig oberhalb der Bodenoberfläche ähnlich den verbänderten Trieben an Lathyrus odoratus. Versuche, Pseud. tumefaciens zu isolieren, waren erfolglos. Weil es ihnen aber gelang, nach künstlicher Infektion mit Reinkulturen von Pseud. tumefaciens an keimenden Samen oder jungen Sämlingen von Asparagus sprengeri ähnliche Wucherungen zu erzielen, wie sie die spontan infizierten Pflanzen aufwiesen, schließen sie auf Pseud. tumefaciens als Erreger. Daß E. F. Smith und seine Mitarbeiter niemals Asparagus sprengeri natürlich infiziert gefunden haben, obwohl derartige Pflanzen nahezu immer in dem gleichen Gewächshaus vorhanden waren, in dem Versuche mit Pseud. tumefaciens durchgeführt wurden, führen sie darauf zurück, daß keine Aspara-

gus-Sämlinge im Gewächshaus gezogen wurden. Es werden also nur Pflanzen von Asparagus sprengeri im frühen Jugendstadium anfällig sein.

Bei den von mir untersuchten Pflanzen handelte es sich in einem Falle um einen Topf mit Asparagus sprengeri aus der Lehr- und Forschungsanstalt für Gartenbau in Dahlem, der, wie Abb. 1 zeigt, Wucherungen am Wurzelhals aufwies, von denen einige glatte Tumoren, andere kurze, ungleichmäßig verdickte oder umgebildete Sprosse darstellen, und im zweiten Falle um eine Asparagus-Pflanze aus einem Gewächshaus der Biologischen Reichsanstalt, deren dünne Triebe in verschiedener Entfernung von der Bodenoberfläche Tumoren unterschiedlicher Größe trugen, wie Abb. 2 das erkennen läßt.

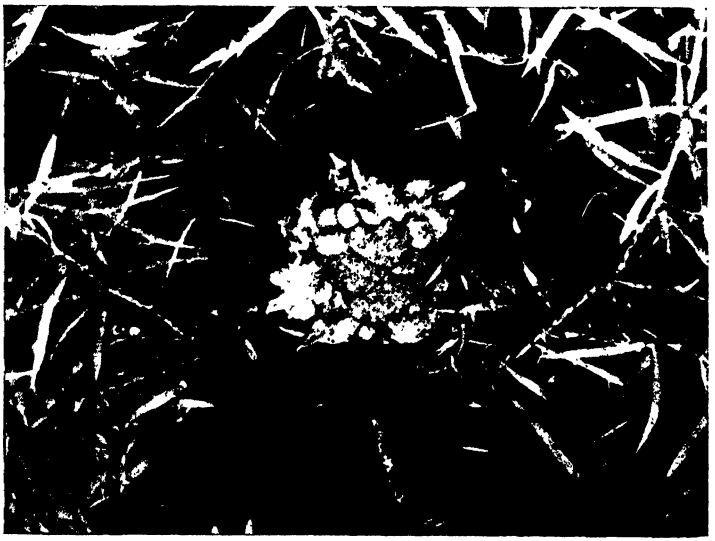


Abb. 1. Spontaninfektion von Asparagus sprengeri mit Pseud. tumefaciens.

Es gelang die Isolierung eines bakteriellen Erregers — die meisten Stämme waren allerdings avirulent —, der auch an Datura Tatula Tumoren bildete. Aus solchen Datura-Tumoren wurde der Erreger unter Verwendung von Bouillon-Agar reisoliert.

Bei einer derartigen Reisolierung wurden 15 Kolonien von der Platte einzeln abgeimpft (= 15 Stämme). Alle Kolonien hatten Ähnlichkeit mit solchen von Pseud. tumefaciens. Sie wurden nochmals an Datura Tatula auf ihre Virulenz geprüft:

Stamm 6, 9 und 12 waren apathogen,
„ 10 hatte schwache,
„ 1, 3, 5, 7, 8, 11, 13, 14 und 15 hatten stärkere und
„ 2 und 4 recht starke Tumoren gebildet.

Außer Stamm 6 und 12 färbten alle Stämme den Bouillon-Agar braun.

Die beiden besonders virulenten Stämme 2 und 4 und die 3 avirulenten Stämme 6, 9 und 12 wurden nochmals durch die Platte geschickt (Bouillon-Agar) und von jedem Stamm je 2 Subkulturen (a und b) abgeimpft.

Bei der erneuten Virulenzprüfung an Datura Tatula erwiesen sich alle Subkulturen der 3 avirulenten Stämme wiederum als avirulent. Von Stamm 2 war Subkultur a auch apathogen[1]), b dagegen noch kräftig virulent, während die beiden Subkulturen des Stammes 4 die gleiche Pathogenität besaßen wie der Mutterstamm.

Ein Jahr später wurde die Virulenzprüfung nochmals wiederholt. Das Ergebnis, das nach 25 Tagen erhalten wurde, ist in Tab. 1 wiedergegeben. Danach waren Stamm Asp. 2 b und 4 b, wenn auch an den Testpflanzen unterschiedlich, doch virulenter als der bisher virulenteste Stamm Ra.

Abb. 2. Spontaninfektion von Asparagus sprengeri mit Pseud. tumefaciens.

An älteren Pflanzen von Asparagus sprengeri traten nach künstlicher Infektion keine Wucherungen auf. Wurden zarte Triebe solcher älteren Pflanzen infiziert, so starben diese merkwürdigerweise ab, während die Kontrollen unverändert lebensfähig blieben. Auch künstlich mit Stamm Asp. 4 b infizierte Keimlinge von Helianthus annuus starben nach Bildung kräftiger Tumoren innerhalb von 3—4 Wochen ab. Es scheint also, daß die aus Asparagus isolierten Bakterien ein Toxin bilden, ebenso wie das die aus Dahlia isolierten Kulturen anfänglich taten.

Um zu prüfen, ob die Stämme an Keimlingen von Lathyrus odoratus Verbänderungen hervorzurufen vermöchten analog denen, die M. S. Lacey mit ihren aus Asparagus isolierten Bakterienkulturen erhalten zu haben angibt, wurden Samen von Lathyrus odoratus als auch vergleichsweise von Pisum sativum 5—6 Tage auf feuchtem Filtrierpapier vorgekeimt. Von den Keimlingen wurde je eine Serie mit Stamm Asp. 4 a, eine zweite mit dem aus Dahlie früher isolierten Stamm Ra (15) und eine dritte mit Stamm Chrys. frut. II b infiziert. Die Infektion erfolgte mit Hilfe einer Injektionsspritze am Hypokotyl, und zwar derart,

[1]) Wie sich später herausstellte, handelte es sich bei dieser Kultur um eine zufällige Verunreinigung, deren Kolonieform aber der von Pseud. tumefaciens ähnelte.

Tabelle 1.

Bakterien-Stamm	Pelargonium zonale, Sorte x	Datura Tatula	Solanum lycopersicum	Helianthus annuus
Asp. 2 b	+	+ + + +	+ + + +	+ + +
„ 4 b	(+)[1])	+ + +	+ + +	+ + + + (eingeg.)
„ 6 a	—	—	—	—
„ 9 a	—	—	—	—
„ 10	—	—	—	—
Ra (= Kontrolle)	+	+ + +	+ + / + +	+ + +

[1]) (+) = sehr schwacher, + = schwacher, + + = maßig großer, + + + = großer und + + + + = kräftiger Tumor.

daß auch noch jeweils ein Keimblatt getroffen wurde. Eine vierte Kontrollreihe wurde in gleicher Weise angestochen, aber an Stelle der Bakterienaufschwemmung wurde steriles Wasser verwendet.

Alle Keimlinge wurden sodann in lockere Komposterde in Töpfe gepflanzt. Der Versuch wurde am 15. 9. 1937 begonnen und am 8. 10. 1937 abgebrochen. An den Erbsen hatten die Infektionen keinerlei Erfolg. Die Lathyrus-Pflanzen hatten dagegen mit allen 3 Stämmen nur Tumoren an den Infektionsstellen gebildet, auch mit Stamm Asp. 4 a waren keine Verbänderungen entstanden (s. Abb. 3).

Abb. 3. Durch künstliche Infektion am Hypokotyl der Keimlinge von Lathyrus odoratus mit einem aus Asparagus-Tumoren isolierten Stamm von Pseud. tumefaciens hervorgerufene Tumoren. Infiziert am 13. 9. 1937, aufgenommen am 9. 10. 1937.

Zur Prüfung des serologischen Verhaltens von Pseud. tumefaciens aus Asparagus sprengeri wurde Kaninchenserum verwendet, das durch Injektion mit Stamm Dahlia Ra gewonnen war, und für Ra einen Titer 1 : 8000 besaß. Dieses Serum agglutinierte noch in einer Verdünnung von 1 : 10 000 die Asparagus-Stämme.

Im Praezipitationsversuch, zu dem auch die nichtpathogenen Stämme 6 a und 9 a herangezogen wurden, ergab sich ebenfalls völlige Übereinstimmung zwischen Ra, Asp. 4 b, 6 a und 9 a.

Damit ist erwiesen, daß nicht Pseud. fasciens, sondern Pseud. tumefaciens für die Entstehung der Wucherungen an Asparagus sprengeri verantwortlich gemacht werden muß. —

Über Spontanbefall von Phaseolus vulgaris durch Pseud. tumefaciens waren Angaben in der bis jetzt vorliegenden Literatur nicht zu finden. Die Bohne ist zwar mehrfach zu Versuchszwecken mit Pseud. tumefaciens herangezogen worden. So haben z. B. N. A. Brown und F. E. Gardner (3) ihre ersten Untersuchungen über die Zellproliferationen auslösende β-Indolylessigsäure im Vergleich zu Pseud. tumefaciens an Bohnen durchgeführt. Ebenso haben sich bei gleichgerichteten Versuchen E. J. Kraus, N. A. Brown und K. C. Hamner (7) sowie G. K. K. Link, H. W. Wilcox und A. D. Link (10) der Bohne als Testpflanze bedient; sie benutzten die Sorte Red Kidney.

Abb. 4. Spontaninfektion von Phaseolus vulgaris mit Pseud. tumefaciens. Stangenbohne, Sorte Juli.

Dame (5) hat mehrfach Infektionen mit verschiedenen Stämmen von Pseud. tumefaciens an Phaseolus vulgaris, Sorte Flageolet St. Andreas, versucht, aber in allen Fällen ein negatives Ergebnis bei dieser Sorte gehabt.

Von E. Laubert[1]) wurden mir aus Mülheim-Ruhr im Herbst 1937 Bohnen übersandt, die aus einer dortigen Gärtnerei stammten und Wucherungen zeigten, welche auf eine Spontaninfektion mit Pseud. tumefaciens schließen ließen (s. Abb. 4 u. 5). Am Wurzelhals waren die Tumoren teilweise langgestreckt, ähnlich wie bei der Weinrebe (Abb. 4), teilweise kropfartig (Abb. 5, linke Pflanze). Ebenso waren sie an den höheren Stengelteilen oder Blattstielen mehr kugelig kropfartig. Bei den kranken Bohnen handelte es sich um eine Stangenbohne, Lokalsorte „Juli".

Aus einem langgestreckten und einem kleinen Tumor am Wurzelhals, sowie einem oberen Stengeltumor wurden die Erreger zu isolieren versucht, und zwar einmal direkt mittels Bouillonagar und zum andern durch Übertragung von Gewebebrei der Tumoren auf frische Wunden von Datura Tatula. Von den auf direktem Wege gewonnenen Bakterienkulturen wurden von jeder Plattenserie mehrere ausgewählt und auch diese an Datura auf Pathogenität geprüft. Sowohl die Impfungen mit Rohmaterial wie die mit

[1]) Herrn Regierungsrat Dr. Laubert sei an dieser Stelle für die Zusendung des Materials nochmals bestens gedankt.

Reinkulturen verliefen vollständig negativ. Deshalb wurde gesundes Saatgut der Stangenbohne „Juli" beschafft und dieses nach Heranzucht gleichzeitig mit einigen anderen australischen Bohnensorten, die zufällig zur Verfügung standen, zu Infektionsversuchen verwandt. Geimpft wurde mit 8 verschiedenen Stämmen (= Bo. 1—8) und zur Kontrolle bei Juli mit Ra (s. Tab. 2).

Bei der Sorte Juli waren also 5 der aus den Bohnentumoren isolierten Bakterienstämme sicher pathogen, davon 2 stärker, und 3 schwächer. Stamm Ra besaß gegenüber dieser Sorte nur eine schwache Virulenz. Stamm Bo. 4 war der einzige, der bei allen 4 Bohnensorten Wucherungen hervorgerufen hatte. Im übrigen zeigten sich die 3 ersten Sorten widerstandsfähiger als „Juli".

Aus einem mit Stamm Bo. 4 künstlich erhaltenen Tumor wurden die Bakterien reisoliert und von den Platten 12 Kolonien (= reis. Bo. 4 a — Bo. 4 m) abgeimpft. Diese wurden wiederum auf ihre Virulenz an der Sorte Juli geprüft, und zwar an je 2 Pflanzen mit je 2 Impfstellen.

Die Infektionen erfolgten am 15. 1. 1938,

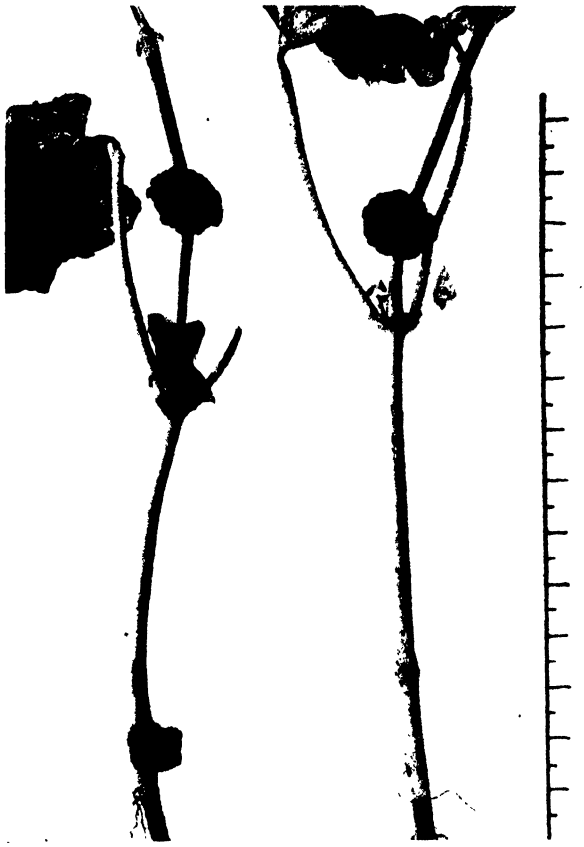


Abb. 5. Spontaninfektion von Phaseolus vulgaris mit Pseud. tumefaciens. Stangenbohne, Sorte Juli.

Tabelle 2.

Bakterien-Stamm	Bohnen, Sorte: Refugee Wax	Blue Wonder	Black Prince	Juli
Bo. 1	+	—	—	+
„ 2	—	—	—	++
„ 3	±	—	—	++
„ 4	++	+	+	+
„ 5	—	—	—	—
„ 6	—	—	±	±
„ 7	—	±	—	±
„ 8	+	—	—	+
Ra				+

nachdem die Bohnenpflanzen etwa 3 Wochen alt waren; das Ergebnis wurde am 21. 2. 1938 registriert:

reisoliert.	Bo.	4 a	±	reisoliert.	Bo.	4 g	+
„	„	4 b	+	„	„	4 h	—
„	„	4 c	±	„	„	4 i	++
„	„	4 d	+++	„	„	4 k	—
„	„	4 e	+	„	„	4 l	—
„	„	4 f	±	„	„	4 m	±

Kontrolle: —

Von den 12 reisolierten Stämmen waren demnach 5 sicher pathogen, davon 2 stärker, 4 waren in ihrer Pathogenität fraglich und 3 völlig avirulent. Keiner der isolierten bzw. reisolierten Stämme aus Bohnen färbte den Agarnährboden braun.

Abb. 6. Durch künstliche Infektion am Stengel von Phaseolus vulgaris, Sorte Juli, mit aus Bohnentumoren isolierten Stämmen von Pseud. tumefaciens hervorgerufene Wucherungen. Infiziert am 9. 12. 1937, aufgenommen am 29. 1. 1937.

Es wurden ferner gleichzeitig bzw. etwas später geimpft: Pelargonium zonale, Sorte x (15) mit den Stämmen Bo. 2 — Bo. 4 und mit reis. Bo. 4 d, sowie nochmals Datura Tatula mit Bo. 2 und reis. Bo. 4 d.

Alle diese letzteren Infektionen, bei denen zumeist je 4 Pflanzen für jeden Stämm benutzt worden waren und außerdem jede Pflanze mindestens 2 Infektionsstellen trug, waren vollständig negativ.

Sie wurden ein drittes Mal im Mai/Juni 1938 wiederholt, wobei als weitere Wirtspflanze Solanum lycopersicum herangezogen wurde und von den reisolierten Bakterienstämmen noch der Stamm reis. Bo. 4 i.

Das Ergebnis war wiederum das gleiche: außer an Bohne waren sämtliche Infektionen negativ ausgefallen.

Es überraschte daher auch nicht das serologische Verhalten dieser Stämme. Serum, das mit Pseud. tumefaciens Stamm Chrys. frut. II b gewonnen wurde und einen Titer von 1 : 10 000 hatte, also noch einen etwas höheren Titer als das Ra-Serum, agglutinierte die Stämme Bo. 3 und Bo. 4 nicht. Mit Extrakten dieser gleichen Bo.-Stämme war auch die Praezipitinreaktion negativ.

Bo. 3 und Bo. 4 bildeten ebenso wie Asp. 4 in Eisen-Mangan-Möhrensaft innerhalb von 5—8 Tagen bei 28° C die für Pseud. tumefaciens charakteristischen Sterne. Die Eigenbewegung war eine sehr gute. Färbungen nach Gram fielen negativ aus, und auch sonst zeigten sich in morphologischer und färberischer Hinsicht keine Unterschiede. Demnach muß es sich also

auch bei den Bohnenstämmen um Pseud. tumefaciens handeln; Pseud. fascians wird im Gegensatz hierzu als unbeweglich und Gram-positiv beschrieben.

Zusammenfassung.

Aus spontan entstandenen Tumoren von Asparagus sprengeri und von Phaseolus vulgaris (Stangenbohne, Sorte Juli) konnten die bakteriellen Erreger isoliert und als Pseudomonas tumefaciens identifiziert werden.

Während Pseud. tumefaciens aus Asparagus sprengeri auch an Datura Tatula, Lathyrus odoratus u. a. Pflanzen pathogen war, rief Pseud. tumefaciens aus Phaseolus vulgaris nur an Bohnen und nicht an Datura Tatula, Pelargonium zonale, Solanum lycopersicum oder Helianthus annuus Wucherungen hervor. Das serologische Verhalten beider war ebenfalls verschieden. Pseud. tumefaciens aus Asparagus stimmte serologisch vollkommen mit den aus Dahlia und Chrysanthemum frutescens isolierten Erregern überein, Pseud. tumefaciens aus Phaseolus dagegen nicht. In Eisen-Mangan-Möhrensaft wurden aber von beiden Sterne gebildet. Morphologisch wie färberisch zeigten sich keine Unterschiede.

Literatur.

1. Brown, I. G., and Evans, M. M., Crown gall on a conifer. (Phytopath. Vol. 23. 1933. p. 97—101.) — 2. Brown, I. G., and Evans, M. M., The natural occurrence of crown gall on the Giant Cactus, Carnegiea gigantea. (Science. [N. S.] Vol. 78. 1933. p. 167—168; ref.: Rev. appl. Mycol. Vol. 13. 1934. p. 101.) — 3. Brown, N. A., and Gardner, F. E., Galls produced by plant hormones, including a hormone extracted from Bacterium tumefaciens. (Phytopath. Vol. 26. 1936. p. 708—713.) — 4. Brown, N. A., and Weiss, F., Crown gall of the fasciated type on Asparagus sprengeri. (Plant Dis. Rep. Vol. 21. 1937. p. 31—32; ref.: Rev. appl. Mycol. Vol. 16. 1937. p. 442.) — 5. Dame, F., Pseudomonas tumefaciens (Sm. et Towns.) Stev., der Erreger des Wurzelkropfes in seiner Beziehung zur Wirtspflanze. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 98. 1938. S. 385—429.) — 6. Emery, Origine bactérienne des tumeurs de l'orme. (Compt. rend. Acad. Sci. T. 193. 1931. p. 76—77.) — 7. Kraus, E. J., Brown, N. A., and Hamner, K. C., Histological reactions of bean plants to indoleacetic acid. (Bot. Gaz. Vol. 98. 1936. p. 370—420.) — 8. Lacey, M. S., Studies in bacteriosis. XXII. 1. The isolation of a bacterium associated with „fasciation" of Sweet Peas, „cauliflower" Strawberry plants and „leafy gall" of various plants. (Ann. appl. Biol. Vol. 23. 1936. p. 302—310.) — 9. Lacey, M. S., Studies in bacteriosis. XXIII. Further studies on a Bacterium causing fasciation of sweet peas. (Ann. appl. Biol. Vol. 23. 1936. p. 743—751.) — 10. Link, G. K. K., Wilcox, H. W., and Link, A. D., Responses of bean and tomato to Phytomonas tumefaciens, Ph. tumefaciens extracts, β-indoleacetic acid, and wounding. (Bot. Gaz. Vol. 98. 1937. p. 816—867.) — 11. Miles and Brown, U. S. Dept. Agr. Bur. Plant Indust. Plant Dis. Rep. Suppl. Vol. 81. 1931. p. 133; siehe Brown, I. G., and Evans, M. M., Crown gall on a conifer. (Phytopath. Vol. 23. 1933. p. 97—101.) — 12. Muncie, J. H., Crown gall of Rumex crispus L. and Rheum raponticum L. (Iowa State Coll. Journ. of Sci. Vol. 4. 1930. p. 315—321; ref.: Rev. appl. Mycol. Vol. 9. 1930. p. 631.) — 13. Rainio, A. J., Pseudomonas tumefaciens Sm. and Towns. auf Salix caprea. (Ann. Bot. Soc. Zool. Bot. Fenn. Vanamo. Vol. 2. 1932. p. 3—18. [Finnish summary.] Ref.: Rev. appl. Mycol. Vol. 12. 1933. p. 797.) — 14. Smith, C. O., Crown gall on conifers. [Abstract.] (Phytopath. Vol. 25. 1935. p. 894.) — 15. Stapp, C., Der Pflanzenkrebs und sein Erreger Pseudomonas tumefaciens. IV. Mitt.: Eine neue Wirtspflanze (Dahlia variabilis Desf.) mit hochvirulentem Erreger. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 95. 1936. S. 273—283.) — 16. Tilford, P. E., Fasciation of Sweet Peas caused by Phytomonas fascians n. sp. (Journ. agric. Res. Vol. 53. 1936. p. 383—394.)

Nachdruck verboten.

Vergleichende bakteriologische Untersuchungen an einigen deutschen Stämmen des Bac. larvae, des Erregers der bösartigen Faulbrut der Honigbiene.

[Aus der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft in Berlin-Dahlem.]

Von **Eugenia R. Stoilowa.**

Mit 8 Abbildungen im Text.

Die bösartige Faulbrut ist eine durch den Bac. larvae hervorgerufene ansteckende, hartnäckige und schleichend verlaufende Krankheit der Bienenbrut, bei der die Larven in der Regel bald nach der Zellverdeckelung absterben und alsdann eine eigentümliche Beschaffenheit annehmen (Borchert, 1937).

Diese Brutkrankheit, die schon den Imkern des Altertums bekannt war, ist höchstwahrscheinlich in den meisten Ländern, wo Bienenzucht getrieben wird, verbreitet. Allgemein wird die bösartige Faulbrut von den Imkern gefürchtet, zumal ihre rechtzeitige Erkennung in der Praxis Schwierigkeiten bereitet. Besonders bedenklich ist, daß die Seuche, wenn sie auf einem Stande erst einmal ausgebrochen ist, immer weiter um sich greift und daß, wenn zu ihrer Unterdrückung nichts unternommen wird, schließlich alle Völker des Standes absterben und die Faulbrut-Seuche auch auf die benachbarten Stände übergeht.

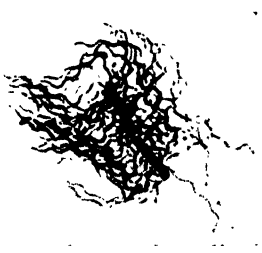


Abb. 1.

Abb. 2.

Abb. 1. Geißelbehang des Bac. larvae; Giemsafärbung; 2000 : 1. Phot. Maaßen.

Abb. 2. Bac. larvae, Fadenverbände; gef. Gentianaviolett; 250 : 1. Phot. Stoilowa.

Der Erreger der bösartigen Faulbrut ist ein grampositives, bewegliches, sporenbildendes Stäbchen von 2,5—5,0 μ Länge und 0,5—0,8 μ Breite; es trägt peritrich angeordnete Geißeln (Abb. 1) und neigt bei seiner Vermehrung zur Bildung von Fadenverbänden (Abb. 2). Beim Zugrundegehen der Stäbchen legen sich die Geißeln zu spirochätenähnlichen Verbänden (Abb. 3) zusammen, die u. U. noch nach Jahrzehnten in toter Brut, in den sog. Faul-

brutschorfen, bei geeigneter Färbung (z. B. nach Giemsa) nachweisbar sind. Die Färbung des Bac. larvae gelingt leicht mit den üblichen Farbstoffen; zur Sichtbarmachung der in frisch gestorbenen Maden, den sog. Faulbrutmassen, sowie in alten Schorfen eingebetteten Sporen (Abb. 5) empfiehlt sich für die Praxis eine dünne Fuchsinlösung. Die Sporen sind 1,1—1,9 μ lang und 1,4 μ breit (Abb. 4). Bac. larvae wächst bei einer Temperatur von 34—37° C aërob und fakultativ anaërob, braucht jedoch besondere Nährböden.

Abb. 3.

Abb. 4.

Abb. 3. Geißelverbände des Bac. larvae; Giemsafärbung; 1000 : 1. Phot. Maaßen.

Abb. 4. Sporen des Bac. larvae von der Kultur; gef. Gentianaviolett; 1000 : 1. Phot. Stoilowa.

Zu seiner Züchtung sind die verschiedensten Spezialnährböden angegeben worden. So ein Bienenmadenagar nach White, Leberbouillon nach Tarozzi und Gehirnnährböden nach Maaßen, Serumagar nach Bahr, Hefeextraktagar nach Sturtevant (1924), Traubenzucker-Blutagar nach Zeißler, Hefe-Pepton-Mohrrübenextrakt-Nährboden nach Lochhead (1928, 1933), Traubenzucker-Kaninchen-Serumagar nach Tomasec u. a. m. Die größte praktische Bedeutung von diesen Nährböden kommt zweifellos dem von Sturtevant angegebenen zu, schon deshalb, weil er verhältnismäßig leicht herzustellen ist und ein gutes charakteristisches Wachstum der Kolonien verbürgt.

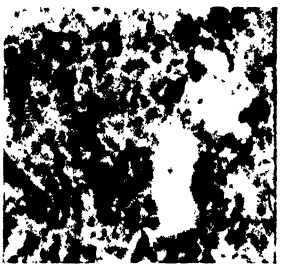


Abb. 5. Madenausstrich; Sporen von Bac. larvae; gef. Karbolfuchsin; 1000 : 1. Phot. Stoilowa.

Auf der Oberfläche des Agarnährbodens bildet der Bac. larvae grauweiße, gleichmäßig runde, später milchigtrübe Kolonien von mäßiger Größe (1—3 mm Durchmesser). Bei schwacher Vergrößerung lassen die Randteile kleine milchige Streifen oder Flecken erkennen, die eine eigentümliche Felderung zeigen. Diese erkennt man bei stärkerer Vergrößerung als zahlreiche, haarflechtenartig gewundene Fadenstränge, die den Eindruck erwecken, als seien die Kolonien aus übereinandergelagerten Locken zusammengesetzt (Abb. 6).

Der Bac. larvae ist im Jahre 1903 erstmalig von dem amerikanischen Bakteriologen White gezüchtet worden. Im Jahre 1906 hat Maaßen über ihn berichtet und ihn Bac. Brandenburgiensis genannt, ein Name, der auf der 62. Wanderversammlung der Bienenwirte deutscher Zunge in Marienburg im Jahre 1924 wieder verlassen worden ist.

Die Verbreitung der bösartigen Faulbrut wird durch viele Umstände begünstigt. Vor allem trägt der Imker selbst wesentlich zu ihrer Weiterverbreitung bei, und die Bienen kommen durch ihr Verfliegen, Räubern und Schwärmen hierfür in Betracht; auch die verschiedensten im Bienenstock schmarotzenden Gliedertiere können die Sporen des Erregers weiter verschleppen.

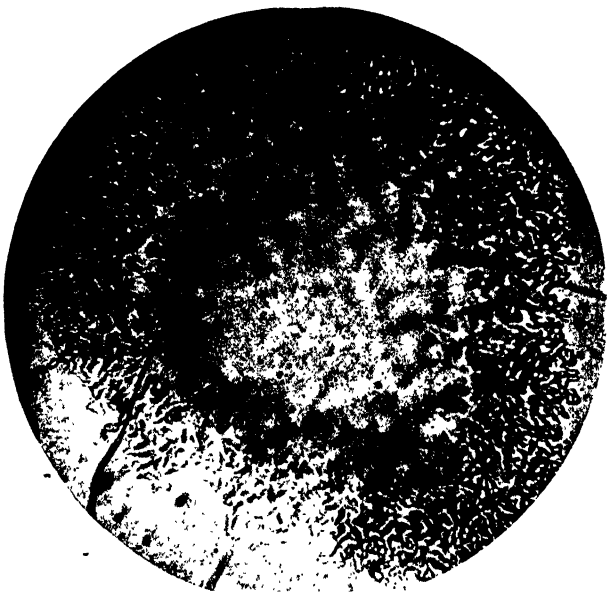


Abb. 6. Kolonie des Bac. larvae; 150 : 1. Phot. Stoilowa.

Die Spore des Bac. larvae, des Erregers der bösartigen Faulbrut, liegt nicht nur in den an der Seuche zugrunde gegangenen Madenresten, sondern befindet sich auch im Honig der Futterkränze (Sturtevant 1932, 1936; Borchert 1937).

Die durch die Seuche hervorgerufenen Schäden bedeuten nicht nur für den Imker schwere Verluste, sondern vor allem für die Allgemeinheit, da die verseuchten Bienenvölker in ihrer Arbeitskraft herabgesetzt werden und so die von uns gewünschte Befruchtungstätigkeit bei vielen unserer Kulturgewächse gemindert wird. In diesem Sinne bezeichnet der bulgarische Entomologe Drensky (1932, 1933, 1936) die bösartige Faulbrut mit Recht als eine Seuche, die vom sozialen Standpunkte gesehen die größte Beachtung verdient.

Die Bekämpfung der bösartigen Faulbrut wie auch der übrigen Bienenkrankheiten ist noch nicht so weit durchorganisiert wie die Seuchenbekämpfung der großen Haustiere, wenngleich auch schon viele Länder eine amtliche Bienenseuchenbekämpfung eingeführt haben, die den Tierseuchengesetzen eingegliedert ist. Vorarbeiten für eine Bienenseuchenbekämpfung auf internationaler Grundlage sind auf einer Konferenz in Prag im Jahre 1936, an der die Vertreter mehrerer Staaten teilgenommen haben, bereits geleistet worden (Borchert 1931, 1936).

In der Praxis bereitet die Unterdrückung der Seuche von jeher beträchtliche Schwierigkeiten, die ihren Grund vor allem in der großen Widerstandsfähigkeit der Sporen (White, Grandi, Maaßen und Borchert) des Erregers haben. Zusammenfassend ist hierüber von Borchert berichtet (1937). So ist z. B. festgestellt, um nur einige Ergebnisse der hierüber

angestellten Untersuchungen anzuführen, daß Faulbrutmasse trockene Hitze von 100° 8 Std. aushält, ohne daß die in ihr befindlichen Sporen des Bac. larvae abgetötet wurden, und daß bei einer in Wasser aufgeschwemmten Faulbrutmasse eine Abtötung der Faulbrutsporen bei 100° in 11 Min. erfolgt. Eines der Hauptziele bei einer Bekämpfung der bösartigen Faulbrut ist es, die im Wabenbau eingehüllten Bac. larvae-Sporen sicher zu vernichten. Ein wesentliches Mittel, diese Bedingungen zu erfüllen, ist der nach Angaben von Borchert von der Firma Hartmann in Berlin-Rudow hergestellte Autoklav, mit dessen Hilfe verseuchter Wabenbau erst ausgepreßt wird und das ausgeschmolzene Wachs dann eine Stunde lang bei einer Temperatur von 110—112° erhitzt wird.

Die durch ein ultravisibles Virus hervorgerufene Sackbrut hat insofern große Ähnlichkeit mit der bösartigen Faulbrut, als sie ein gleiches Wabenbild zeigt und die Zersetzung der Maden in formlose, braunschwarze Massen und Krusten erfolgt, so daß diese Krankheitssymptome mit Faulbrutschorfen verwechselt werden können. Des weiteren können mit der bösartigen Faulbrut weniger gefährliche Brutkrankheiten verwechselt werden, die durch eine Reihe von Bazillenarten erzeugt werden (Borchert 1937). Bei diesen Bruterkrankungen zerfallen die Maden in gelb- bis dunkelbraune Massen von meist breiiger oder jauchiger, in Ausnahmefällen aber auch von schleimiger Beschaffenheit. Von den diese Erkrankungen auslösenden Bazillenarten kommt die größte praktische Bedeutung dem Bac. alvei und dem Bac. orpheus zu. Der Bac. alvei ist ein schwach zugespitztes Stäbchen von 2,2—7,0 μ Länge und 0,8—1,2 μ Breite; seine mittelständig gebildeten Sporen sind 1,7—1,9 μ lang und 1,0—1,1 μ breit (Abb. 7). Auffallend ist, daß bei Anwesenheit des Bac. alvei die Maden einen unangenehmen, an zersetzte Fettsäuren erinnernden Geruch erkennen lassen. Der Bac. orpheus, dessen Pathogenität für die Bienenbrut von Borchert (1937) und Örösi-Pal nachgewiesen ist, erscheint als ein Stäbchen von 2,5—5,0 μ Länge und 1,0—1,2 μ Breite, das nach der Sporenbildung ein eigentümliches Verhalten zeigt, indem es sich etwa halbkreisförmig um die mittelständig gebildeten Sporen, die 1,2—2,0 μ lang und 0,7—1,2 μ breit sind, herumlegt (Abb. 8). Die durch Streptococcus apis hervor-

Abb. 7.

Abb. 8.

Abb. 7. Madenausstrich; Stäbchen und Sporen von Bac. alvei und Streptococcus apis; gef. Karbolfuchsin; 1000 : 1. Phot. Maaßen.

Abb. 8. Stäbchen von Bac. orpheus; gef. Gentianaviolett; 800 : 1. Phot. Stoilowa.

gerufene Sauerbrut, bei der die Maden trocken-krümelig zerfallen und einen deutlich sauren Geruch von sich geben, kommt hinsichtlich der Erkennung der bösartigen Faulbrut nur sehr selten in Betracht. Der Strept. apis kommt zuweilen gemeinsam mit Bac. alvei vor (Abb. 7).

Angeregt durch Herrn Prof. Dr. St. Angeloff in Sofia, beschäftigte ich mich gelegentlich meines Studienaufenthaltes in Deutschland u. a. auch mit den Bienenkrankheiten; Herr Regierungsrat Prof. Dr. A. Borchert führte mich in dieses Gebiet ein.

Eigene Untersuchungen.

Über die Biologie des Bac. larvae liegen zahlreiche Veröffentlichungen aus den verschiedensten Ländern vor, von denen hier erwähnt seien die von White, Maaßen, Burri, Sturtevant, Lochhead, Philipps, Morgenthaler, Zander, Drensky, Toschkoff und Borchert, in dessen Buch weitere Literaturangaben zu finden sind. Es fehlte aber an einer zusammenfassenden Arbeit über die verschiedenen Lebenseigenschaften des Bac. larvae, und so verdanke ich Herrn Regierungsrat Borchert die Anregung, an mehreren deutschen Stämmen des Bac. larvae vergleichende Untersuchungen vorzunehmen[1]).

Für meine Untersuchungen, deren Anordnung und Verlauf ich im folgenden wiedergebe, habe ich für die Züchtung des Bac. larvae außer dem von Lochhead angegebenen flüssigen und festen Nährboden auch den gewöhnlichen Traubenzucker-Blutagar angewendet.

Zu meinen Untersuchungen benutzte ich insgesamt 17 Stämme des Bac. larvae; 14 davon gewann ich aus Faulbrutmassen und -schorfen von Waben, die aus verschiedenen Gegenden des Deutschen Reiches stammten; die anderen 3 Stämme stellte, auf Traubenzucker-Blutagar gezüchtet, das Landestierseuchenamt in Rostock zur Verfügung.

Zum Vergleich und zur Kontrolle untersuchte ich neben den 17 Stämmen des Bac. larvae auch deutsche Stämme von Bac. alvei, Bac. orpheus, Bact. coli und Streptococcus apis.

Den Lochheadschen festen Nährboden fertigte ich mit einigen in der Dienststelle gebräuchlichen Abweichungen wie folgt an.

Zunächst wird ein Gemisch aus 1000,0 ccm Aqu. dest., 10,0 g Pepton Witte, 0,5 g K_2HPO_4 und 10,0 g gepreßter Hefe im Autoklav erhitzt, 5—10 Minuten über einer Flamme geschwenkt und mehrmals durch ein dreifaches Papierfilter bis zur Klarheit filtriert; alsdann erst erhält es einen Zusatz von 15,0 g Stangenagar und gelangt bis zu dessen Lösung in den Autoklaven. Nebenher wird ein Mohrrübenextrakt hergestellt, indem man 200,0 g in einer Glasreibe zerkleinerter Karotten mit 500,0 ccm Aqu. dest. stehen läßt und den Extrakt durch ein zusammengelegtes Mulltuch preßt und durch ein dreifaches Papierfilter klar filtriert. Von diesem Mohrrübenextrakt, der ein grünliches, opaleszierendes Aussehen hat und einen p_H-Wert von 6,5 haben soll, nimmt man einen Teil auf fünf Teile des Hefepepton-Agars, fügt die beiden Bestandteile zusammen, schüttelt gut um, sterilisiert nochmals und füllt ab.

Die von mir aus faulbrütigen Maden gezüchteten Stämme des Bac. larvae ließen auf diesem Nährboden Kolonien entstehen, die in ihrem Aussehen und ihrer Beschaffenheit mit den in der Literatur angegebenen Merkmalen allgemein übereinstimmten (Abb. 6).

[1]) An dieser Stelle danke ich dem Herrn Präsidenten der Biologischen Reichsanstalt für die Überlassung eines Arbeitsplatzes in der Dienststelle für Erforschung und Bekämpfung der Bienenkrankheiten, statte hiermit auch deren Leiter, Herrn Regierungsrat Prof. Dr. Borchert, meinen Dank ab für die hilfsbereite Förderung meiner Arbeit und danke auch den Herren Oberregierungsrat Dr. Stapp und Regierungsrat Dr. Janisch für die mir zuteil gewordenen Unterstützungen.

An diesen Kulturen konnte ich die Form und Größe und die Gestaltsveränderungen der jungen und alten Stäbchen sowie die Entstehung der Sporen bei 37° fortlaufend beobachten (Abb. 2, 4 u. 5).

Für meine Untersuchungen über die Vergärung von Kohlehydraten und mehrwertigen Alkoholen benutzte ich außer dem festen Hefepepton-Mohrrübenagar als Grundlage auch einen flüssigen, ebenfalls von Lochhead angegebenen Hefepepton-Mohrrübennährboden, dessen Herstellung in gleicher Weise geschah wie die des festen, nur mit dem Unterschied, daß der Agar fortblieb.

Des weiteren verwendete ich zu Kontrollzwecken den in der Dienststelle gebräuchlichen Vitam-Bakt-Agar zur Züchtung der sonstigen Bakterienstämme, der wie folgt hergestellt wird: 22,0 g Vitam-Bakt (Fabrik Bakteriologischer Präparate, Hameln) + 5,0 g NaCl + 10,0 g Witte Pepton + 18,0 g Stangenagar + 1000,0 ccm Aqua dest. Die Mischung wird im Dampftopf gelöst und mit normaler Natronlauge neutralisiert (Rosolsäure) und durch Sodazusatz (1,5‰) leicht alkalisch gemacht und sterilisiert.

Außerdem prüfte ich das Verhalten des Bac. larvae in Peptonlösung, Kali-Peptonlösung, und auf Gelatinenährboden ohne Zusatz von Mohrrübenextrakt, in eiweißfreier Nährlösung, Azolithminlösung, auf Kartoffeln und in Milch, Serum und Bouillon und auf Gelatinenährboden mit Mohrrübenextrakt.

Sämtliche Nährböden stellte ich persönlich her und führte auch alle technischen Untersuchungen persönlich durch.

Bemerkt sei noch, daß ich bei allen Züchtungen auf und in den verschiedenen Nährböden Kontrollimpfungen auf dem Hefepepton-Mohrrübenagar vorgenommen habe, um festzustellen, ob meine Kulturen des Bac. larvae rein waren.

Die Züchtung des Bac. larvae aus den Faulbrutmassen ergab fast stets Reinkulturen.

Das Oberflächenwachstum der Kulturen des Bac. larvae auf dem Hefepepton-Mohrrübenagar gestaltete sich innerhalb 36—48 Std. bei 37° gut und war nach etwa 72 Std. abgeschlossen.

Die sämtlichen von mir gezüchteten Stämme des Bac. larvae sowie die eingesandten Stämme von Rostock zeigten in jungen und älteren Kulturen auf verschiedenem Nährboden mittelgroße bewegliche, grampositive Stäbchen. Sie färbten sich mit allen Anilinfarben und auch nach Giemsa. Die Sporenbildung bei der ersten Züchtung des Bac. larvae begann nach 48 Std. und ging schnell vorwärts; bei Sekundärzüchtung jedoch trat die Sporenbildung langsam und schwach auf. Ebenso konnte ich bei 10 und 20 Tage alten Kulturen noch viele Stäbchenformen beobachten.

Die optimale Temperatur zur Züchtung des Bac. larvae liegt bei 37° C.

Auf gewöhnlichem Nähragar war kein Wachstum von der originalen Züchtung herzustellen; nach mehreren Überzüchtungen begann der Bac. larvae zu wachsen, aber ganz schwach und nicht so charakteristisch wie auf „Hefepepton-Mohrrübenextraktagar".

In gewöhnlicher Fleischbouillon war kein Wachstum zu erzielen.

In Peptonlösung (2,5% Pepton Witte, 0,8% NaCl), Kali-Peptonlösung (2% Pepton Witte, 0,4% NaCl und 0,24% KNO_3) und Gelatinenährboden ohne Zusatz von Mohrrübenextrakt war kein Wachstum zu beobachten.

Auf Kartoffeln war ebenfalls kein Wachstum vorhanden.

In eiweißfreier Nährlösung nach Proskauer und Beck war kein Wachstum vorhanden; die Lösung ist ganz klar geblieben.

In Azolithminlösung nach Seitz ohne Zusatz von „Hefe-pepton-Mohrrübenextrakt" war kein Wachstum und keine Säurebildung zu beobachten. Aber nach Zusatz von „Hefe-Pepton-Mohrrübenextrakt" konnte man nach 10 Tagen eine schwache Trübung sehen. Es bildete sich ein Bodensatz, der sich fädig und schwer zerteilen ließ. Es konnte bis zu 21 Tagen eine Säurebildung nicht festgestellt werden.

In Hefe-Pepton-Mohrrübenextrakt war das Wachstum nach 48 Std. gut. Es bildeten sich wollfadenähnliche Zusammenklumpungen in der klaren Flüssigkeit. In alten Kulturen lagen die Kolonienverbände am Boden.

Die Indolbildung war bis zu 21 Tagen immer mit einem negativen Ergebnis verbunden.

In Gelatine mit Zusatz von „Hefe-Pepton-Mohrrübenextrakt" zeigte sich flockiges Wachstum am Boden. Nach 7 Tagen hatten schon einige Stämme den Gelatinenährboden verflüssigt und nach 13 Tagen war die Verflüssigung überall ganz deutlich positiv.

In Milch begann nach 10 Tagen Gerinnung und am 14. Tag war diese im allgemeinen vollständig. Die ausgepreßte Flüssigkeit war klar, und das Gerinnsel wies keine Veränderung der Reaktion auf, keine Säurebildung. Diese Gerinnung ist ein Enzymprozeß (Fermentation) - Labgerinnung.

Die Stämme des Bac. larvae bildeten nach 48 Std. in Kali-Pepton-Hefe-Mohrrübenextraktlösung Nitrit aus Nitrat. Lochhead (1937) kam zu dem gleichen Resultat. Zum Nachweis des Nitrits diente die Methode von Grieß und Ilosway mit a-Naphtylamin und Sulfanilsäure.

Das Wachstum auf 10proz. Pferdeserumagar und Bouillon ist gut. Besonders in Serumbouillon trat nach 3 Tagen Trübung der Flüssigkeit auf und dann begann die Bildung eines Bodensatzes.

Auf gewöhnlicher Blutagarplatte (Traubenzucker 2% + 5% Pferdeblut) wuchs der Bac. larvae sehr gut und schnell, ohne Hämolyse zu erzeugen. Das beste Wachstum zeigte sich nach 24 Std. bei aerober Züchtung. Dieser Nährboden ist zu Laboratoriumszwecken neben dem Lochheadschen Nährboden wegen seiner bequemen Herstellung und Anwendung zu empfehlen. Die Kolonien sind von weißsilberner Farbe, die denen des Bac. pseudoanthracis ähneln (haarlockenähnliche Kolonien) (Abb. 6).

Prüfung auf Gas- und Säurebildung bei Gegenwart verschiedener Zucker und hochwertiger Alkohole in festen und flüssigen Hefe-Pepton-Mohrrübennährböden.

Als Indikator diente Bromkresolpurpur (1,6%, 1 ccm in 1 l).

1. Auf Traubenzuckeragar (1,5% Traubenzucker) war das Wachstum schon nach 24 Std. gut und die Säurebildung begann, die nach 48 Std. vollkommen abgeschlossen war.

2. In Traubenzuckerlösung war nach 24 Std. schwaches Wachstum vorhanden; keine Säurebildung, keine Gasbildung; nach 48 Std. beginnende Säurebildung, aber keine Gasbildung bis zu 21 Tagen, nur ein starker Bodensatz.

3. Auf Milchzuckeragar (3% Milchzucker) begann das Wachstum nach 24 Std. Nach 48 Std. war die Säurebildung vollkommen positiv.

4. In flüssigem Milchzucker-Nährboden gingen das Wachstum und die Säurebildung langsam an. Nach 24 Std. gab es kein Wachstum und keine Säurebildung. Das Wachstum trat erst nach 48 Std. ein, ebenso wie der Satz am Boden des Röhrchens. Nach 4 Tagen war schwache Säurebildung zu beobachten und blieb bis zu 21 Tagen.

5. Auf Rohrzuckeragar (3% Rohrzucker) trat nach 24 Std. nur bei einigen Stämmen Wachstum und Säurebildung ein. Nach 48 Std. waren sie beendet.

6. In Rohrzuckerlösung nach 24 Std. kein Wachstum und keine Säurebildung. Nach 48 Std. erschien das Wachstum sehr schwach und nach 4 Tagen hatte sich ein Bodensatz gebildet. In dieser Zeit begann schwache Säurebildung. Nach 10 Tagen war diese schon stärker, aber im Vergleich zu der in Traubenzuckerlösung schwächer. Bis zu 21 Tagen blieb die Säurebildung gleich.

7. Auf Mannitagar (1,5% Mannit) war das Wachstum nach 24 Std. gut und die Säurebildung stark. Nach 48 Std. waren beide stärker.

8. In Mannitlösung waren nach 24 Std. kein Wachstum und keine Säurebildung zu sehen. Nach 48 Std. fanden sich schwaches Wachstum und nach 72 Std. schwache Säurebildung und Bodensatz.

9. Auf Maltoseagar (1,5% Maltose) waren nach 24 Std. Wachstum und Säurebildung gut, nach 48 Std. stärker.

10. In Maltoselösung ergaben Wachstum und Säurebildung negative Resultate. Nach 48 Std. begann das Wachstum, aber noch keine Säurebildung. Die Säurebildung trat erst schwach nach 72 Std. ein, ebenso Bodensatz.

11. Auf Fruchtzuckeragar (1,5% Fruchtzucker) waren Wachstum und Säurebildung nach 24 Std. sehr gut und stark.

12. In Fruchtzuckerlösung waren nach 24 Std. kein Wachstum und keine Säurebildung zu beobachten. Nach 48 Std. war das Wachstum sehr gut, aber die Säurebildung schwach, nach 4 Tagen traten Bodensatz und stärkere Säurebildung auf.

13. Auf Arabinoseagar (1%) war nach 24 Std. ein gutes Wachstum zu erzielen, die Säurebildung war allerdings nur bei 4 Stämmen positiv. Nach 48 Std. war das Wachstum besser und die Säurebildung bei allen Stämmen schwach positiv. Bis zu 21 Tagen blieb sie gleich.

14. In Arabinoselösung war nach 24 Std. kein Wachstum und keine Säurebildung zu ersehen. Nach 48 Std. war gutes Wachstum und schwache Säurebildung vorhanden. Nach 4 Tagen Bodensatz. Die Säurebildung blieb bis zu 12 Tagen immer schwach.

15. Auf Raffinoseagar (3%) war das Wachstum nach 24 Std. gut und die Säurebildung positiv nur bei 9 Stämmen. Nach 48 Std. war die Säurebildung bei 13 Stämmen positiv. Nach 72 Std. bei allen Stämmen, nach 4 Tagen war sie noch stärker ausgeprägt.

16. In Raffinoselösung konnte man nach 24 Std. schwaches Wachstum, aber keine Säurebildung beobachten. Nach 72 Std. schwache Säurebildung, die bis zu 21 Tagen schwach blieb. Nach 72 Std. bildete sich ebenfalls ein Bodensatz.

17. Auf Galaktoseagar (1,5% Galaktose) trat nach 24 Std. das Wachstum ein, aber keine Säurebildung. Nach 48 Std. war gutes Wachstum vorhanden, Säurebildung aber nur bei 7 Stämmen. Nach 72 Std. war überall Säurebildung vorhanden, aber nur schwach positiv und blieb gleich bis zu 21 Tagen.

18. In Galaktoselösung war nach 24 Std. kein Wachstum, ebenfalls keine Säurebildung zu beobachten. Nach 48 Std. war das Wachstum schwach und noch keine Säurebildung vorhanden, aber nach 72 Std. begann die Säurebildung bei einigen Stämmen und nach 4 Tagen war sie überall schwach positiv; am Boden ein feiner Satz.

19. Auf Dextrinagar (3%) waren das Wachstum nach 24 Std., aber die Säurebildung nur bei 12 Stämmen positiv, und nach 48 Std. überall positiv.

20. In Dextrinlösung waren nach 24 Std. kein Wachstum und keine Säurebildung zu erzielen. Nach 48 Std. waren Wachstum und Säurebildung schwach positiv. Nach 4 Tagen feiner Bodensatz. Bei Beobachtung bis zu 21 Tagen blieb das Resultat gleich.

21. Auf Glyzerinagar (1%) war das Wachstum nach 24 Std. sehr gut, die Säurebildung stark bei allen Stämmen.

22. In Glyzerinlösung waren nach 24 Std. kein Wachstum und keine Säurebildung, nach 48 Std. schwaches Wachstum und Säurebildung vorhanden. Nach 72 Std. gutes Wachstum und feiner Bodensatz. Die Säurebildung blieb bis zu 21 Tagen schwach.

In Stichkultur „Hefe-Pepton-Mohrrüben-Extraktagar". Nach 24 Std. war im Stichkanal Wachstum als weiße Linie zu beobachten. Auf der Oberfläche waren gute Kolonien vorhanden.

Anaërobenzüchtung auf der Fortner-Blutagarplatte: (Agar ohne Traubenzucker mit 5% Kaninchenblut). Die Ergebnisse waren negativ im Vergleich zur Kontrolle von Bac. orpheus, alvei und coli. Unter Sauerstoffabschluß war kein Wachstum vorhanden. Bestes Wachstum konnte jedoch bei verminderter Sauerstoffspannung beobachtet werden.

Zusammenfassung.

Im August des Jahres 1937 wurden 17 Stämme des Bac. larvae, des Erregers der bösartigen Faulbrut der Honigbiene, aus Bienenbrut gezüchtet, die die Merkmale dieser Krankheit aufwies. Das Krankheitsmaterial stammte aus verschiedenen Gegenden des Deutschen Reiches. Die Stämme wurden morphologisch und biologisch geprüft. Die Resultate sind folgende:

1. Die 17 Stämme waren gram-positiv und beweglich.
2. Die Stämme wuchsen nicht auf gewöhnlichem Nährboden.
3. Die Stämme wuchsen bei Zusatz von „Hefe-Pepton-Mohrrübenextrakt" sehr gut.
4. Bewährt hat sich für die Züchtung des Bac. larvae auch der Zeißlersche Blutagar-Nährboden.
5. Das Wachstum und die Säurebildung traten schneller und deutlicher auf festen Agarzuckernährböden in die Erscheinung als in flüssigen Zuckernährboden, und zwar besser bei denen mit einem Zusatz von 1,5% Zucker als bei denen mit einem Zusatz von 3% Zucker.
6. Unter anaëroben Verhältnissen war kein Wachstum zu beobachten.
7. Für eine kulturelle Diagnose genügt die Anlage von Kolonien des Bac. larvae, die an die des Bac. pseudoanthracis (haarlockenähnlich, weiß-silberfarben) erinnern.
8. Die Sporen des Bac. larvae sind durch ihre Form und Größe sowie ihre Zahl im Madenausstrich charakteristisch für die bösartige Faulbrut. Man kann sie im allgemeinen gut von anderen bienenpathogenen Mikroorganismen unterscheiden.
9. Zur sicheren Feststellung der bösartigen Faulbrut ist es u. U. nötig, eine größere Zahl gestorbener Larven zu untersuchen.

Schrifttum.

Bahr, L., Die Krankheiten der Honigbiene und ihrer Brut. (Dtsch. Tierärztl. Wochenschr. Nr. 28. 1916.) — Borchert, A., Bienenseuchenbekämpfung im Ausland. (Arch. f. Bienenkde. Heft 3. 1931. S. 117—155.) — Ders., Über die reichsgesetzliche Regelung der Bekämpfung der Bienenseuchen. (Leipziger Bienenztg. Nr. 8. 1936. S. 209—211.) — Ders., Der Stand der Bienenseuchenforschung und -bekämpfung mit dem Ziel zwischenstaatlicher Regelung. (Dtsch. Imkerführer. Nr. 8. 1936. S. 253—256.) — Ders., Krankheiten der Honigbiene. 4. Aufl. Berlin (Verl. R. Schoetz) 1937. — Burri, R., Bakteriologische Untersuchungen über die Faulbrut und Sauerbrut der Bienen. Aarau (Verl. v. H. R. Sauerländer & Co.) 1906. — Drensky, P., Bericht über die Bienenkrankheiten und Schädlinge in Bulgarien während des Jahres 1932. (Mitteilungen d. Kgl. Entomol. Stat. in Sofia. 1932. Ztschr. „Biene".) — Ders., Bericht über die Bienenkrankheiten und Schädlinge in Bulgarien während des Jahres 1933. (Mitteilungen d. Kgl. Entomol. Stat. in Sofia. 1933.) Sofia (Verl. Bulgar. Bienenkooperation „Nektar") 1933. — Ders., Krankheiten und Schädlinge der Biene in Bulgarien. (Mitteilungen d. bulgar. Entomol. Ges. Sofia. Bd. 9. 1936.) — Ders., Die erste Internationale Konferenz über die Bienenseuchen in Prag, Okt. 27—29, 1936. (Ztschr. „Biene". Jahrg. 30. Heft 1—2. 1937.) — Lochhead, A. G., Cultural stu-

dies of Bacillus larvae (White). (Scient. Agricult. Vol. 9. Nr. 2. 1928.) — Ders., Semi-Solid Medium. For the Cultivation of Bacillus larvae. (Bee World. Vol. 14. 1933. p. 114—115.) — Ders., The Nitrate Reduction Test and its Significance in the detection of Bacillus larvae. (Reprint. fr. the Canad. Journ. of Research. C. 15. 1937. p. 79—86.) — Maaßen, A., Zur Ätiologie der sog. Faulbrut der Honigbiene. (Arb. a. d. K. Biol. Anst. Bd. 6. 1908. S. 53—70.) — Ders., Über die unter dem Namen „Faulbrut" bekannten seuchenhaften Bruterkrankungen der Honigbiene. (Mitt. a. d. K. Biol. Anst. Heft 7. 1909.) — Morgenthaler, O., Beiträge zur Kenntnis der Bienenkrankheiten. (Arch. f. Bienenkde. Bd. 8. 1927.) — Örösi-Pal, Z., Die Rolle des Bacillus orpheus bei der sog. Gutartigen Faulbrut der Honigbiene. (Dtsch. Imkerführer. Nr. 11. 1935. S. 354—356.) — Phillips, E. F., Die Desinfektion bösartiger Faulbrutwaben in Amerika. (Arch. f. Bienenkunde. Bd. 8. 1927. S. 42.) — Sturtevant, A. F., The Development of American Foulbrood in Relation to the Metabolism of its Causative Organism. (Journ. of Agric. Res. Vol. 28. 1934. p. 129—168.) — Ders., Relation of Commercial Honey to the Spread of American Foulbrood. (Journ. of Agric. Res. Vol. 45. Nr. 5. 1932.) — Ders., Quantitative Demonstration of the Presence of Spores of Bacillus larvae in Honey Contaminated by contact with American Foulbrood. (Journ. of Agric. Res. Vol. 52. 1936. p. 697—704.) — Tomasec, Ivo., Prinos bakterioloskoj diagnostici kuge pcelinjeg legla. Zagreb (Veterinarskog Archiv) 1934. Heft 4. — White, G. F., American Foulbrood. United States Departement of Agriculture, Bull. Nr. 809. Washington, D. C. 1920. — Zeißler, Die Technik der Anaerobier-Züchtung. (Handb. d. mikrobiol. Technik. R. Kraus und P. Uhlenhuth. Bd. 6. 1923.)

Nachdruck verboten.

Studies on the Bacterial-Plant Groups.

IV. Variations in the Fermentation Characters of Different Strains of Nodule Bacteria of the Cowpea, Cicer and Dhaincha Groups.

By **M. S. Raju.**

Agricultural Research Institute, Coimbatore (India).

With 2 plates.

The cultural characters of the various strains of nodule bacteria studied among Cowpea, Cicer and Dhaincha groups are not much different from one another as to enable one to classify them into different groups, but they could be classified into their appropriate groups by means of their capacity for nodule formation and fixation of nitrogen on different species of leguminous plants. Based upon the nature of growth on yeast water mannitol agar slant and plate, the cultures of the Cowpea group could be further subdivided into four types.

1. Slow growth, colonies small, opaque to translucent, less gumy, moist, shiny, smooth, e. g., Cowpea 600, Cowpea 602 etc.

2. Moderate growth, colonies moderate, less gumy, moist, but slightly dry in the later stages, opaque, smooth, shiny e. g., Dew Gram 34, Mat bean etc.

3. Quick growth, colonies big, translucent, gumy, moist, e. g., Black gram 1, 2.

4. Quick growth, colonies big, translucent, gumy, moist, shiny, but slightly rough. e. g., Red Gram 39, Horse Gram 1, etc.

The ability of the various cultures to produce nodules and to fix nitrogen also differed widely, but no correlation existed between the variations observed

in their cultural characters and their plant reactions. An attempt was, therefore, made to test whether their fermentation characters give any clue for differentiating the various types observed so far.

The culture of Cicer and Dhaincha groups showed slight variation in the size, appearance and rate of growth of their colonies.

Experimental.

The sources of cultures, technique of isolation and tests of purity were given in the earlier parts (7, 8). The only additional culture used in the present studies was Pillipesara 45, isolated from the nodules of Pillipesara (Phaseolus trilobus Ait.) plants. It was tested for its purity on potato slant and litmus milk and found to be pure. It resembles the type 3 given above.

The basic medium used in these studies was medium 78 of Fred and Waksman (4), substituting mannitol with the carbon compounds under study. The reaction was adjusted to pH 7.0. The agar used was washed well for three days in distilled water. One c. c. each of the saturated solution of Brom Cresol purple and Cresol red was used for one litre of the medium. It was sterilised in an autoclave at 15 lbs., pressure for 20 minutes with the addition of organic compound which cannot be destroyed or gets volatilized at the high temperature. In other cases, the medium without the addition of the organic compound and the aqueous solution of the organic compounds were autoclaved separately, and added under aseptic conditions to the melted tubes before preparing the slant. The monohydric alcohols were added directly to the tubes without any sterilization.

One to three days old culture in the liquid medium 79 of Fred and Waksman (loc. cit) inoculated at 28 to 30° C., was used for inoculating the freshly prepared slants. The slant cultures were incubated at room temperature (28° C.) for one month and periodical observations were taken once a week on the extent of growth, change in the reaction. The highest values observed are given in tables 1 and 2.

The biochemical characters of the typical strains in litmus milk are shown in figures 1 and 2, the appearance of the colonies and the streaks on marmite (yeast extract) mannitol agar in figures 3 to 10.

Some of the cultures become chromogenic, colours ranging from light orange to deep orange on cultivation in the laboratory media, especially with advance age. Such a phenomenon was observed by Almon and Baldwin (1).

The results presented in the above tables indicate that the fermentation characters of different types of nodule bacteria of the Cowpea group can be used in distinguishing the slow growing types from the fast growing ones. The former types of bacteria like Cowpea 600, Cowpea 602 etc., produced good growth on glucose, l-arabinose and xylose among the sugars and a moderate growth on ketoses like fructose while the quick growing types like Cowpea 1, Black Gram I, etc., made good growth on almost all the sugars used except rhamnose. Cowpea 601 which is one of the slow growing types made only a trace of growth on lactose. Dew Gram 34, a moderately growing culture had only a slight growth on maltose. The growth of the cultures on raffinose is of diagnostic character for separating the quick growing types from the slow growing one. The slow growing one had only a

slight or moderate growth on this substance. The quick growing strains produced good or excellent. The reaction of the medium was rendered alkaline by both the types but its magnitude was higher when inoculated with the slow growing type than with the quick growing type. Cultures, Dew Gram 34, Mat bean, etc., the moderately growing types, were ill-defined in their fermentation characters, since some of them reacted like the slow growing type while the others like fast growing strains.

Some of the quick growing types of the cowpea group could grow well on polysaccharides. Among these cultures a few made moderate growth on the potato slants. But the remaining cultures had only a poor growth or no growth at all.

Among alcohols, mannitol produced the best growth, while glycerol was next best. Though dulcitol is also a hexo-hydric alcohol like mannitol, its ability to support the growth of nodule bacteria, especially of the Cowpea group, was inferior to that noted on glycerol medium. Some of the quick growing types could grow well on erythritol. The lower alcohols, ethyl and propyl alcohol, were inferior to the higher alcohol in their ability to support the growth.

Succinic acid was best among the acids, while tartaric acid was fair in supporting the growth. The other acids tried in the experiment were incapable of producing appreciable growth. Some of the cultures, however, grew well on malic acid.

None of the cultures studied in these experiments could grow well on marmite (Yeast extract) mannitol agar shake cultures in the bottom regions. This indicates that these cultures are entirely aerobic in nature even though they tolerate slightly the reduced oxygen tension of the medium.

The organisms of the Cicer group showed comparatively less variations in their ability to grow on media containing sugars as the source of energy They produced only a trace or a moderate growth on glucose, fructose and raffinose. The strains of this group except Cicer 67, produced excellent growth on inulin and Mannitol.

Mannitol was best among the alcohols in supporting the growth of the cultures of this group also. Ethyl alcohol and propyl alcohol were unable to produce appreciable growth just like that observed in the Cowpea group.

In general, organic acids are not suitable as a source of energy for the nodule bacteria. Higher acids, malic and succinic acids, however, produced good growth. The growth was fairly satisfactory on tartaric acid.

None of the cultures could grow to any appreciable extent on the medium containing soluble starch as the source of energy. They were able to grow well on saponin, a glycoside, unlike the cultures of the Cowpea group. In otherwords, the cultural characters of these organisms of the Cicer group can be distinguished from those of the Cowpea group by their ability to grow well on malic acid, erythritol and dulcitol.

The cultures of the dhaincha group exhibited comparatively less variation in their fermentation characters on sugar, similar to what was observed in the Cicer group.

Dextrin appeared to be a better source of carbon to the Dhaincha cultures than for the organisms of Cicer group.

Glycerol also supported good growth of both Cicer and Dhaincha groups. Dulcitol and Erythritol (tetra-hydric alcohol) also produced good growth of all the three groups. Many of the cultures of the Cowpea group produced

Table 1. The Fermentation Characters of Nodule

Compounds	Cowpea I	Cowpea 600	Cowpea 601	Cowpea 602	Dew Gram 34	Black Gram 1	Black Gram 2	Red Gram 39	Red Gram I	Red Gram II
Sugars:										
l-Arabinose	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++++	++++	++++	++++
Fructose	++++	++	+++	+++	>++	+++	+++	++++	+++	+++
Glucose	++++	+++	+++	+++	+++	>++	>+++	+++	+++	+++
Galactose	+++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Lactose	++++	>++	+	>+++	?	+++	+++	>+++	+++	+++
Maltose	++++	+++	++	>+	+	+++	+++	+++	++++	++++
Mannose	+++	++	+++	>++	+++	+++	+++	++++	+++	+++
Raffinose	++++	>++	>++	>++	++	++++	+++	++++	++++	++++
Rhamnose	+++	>++	>++	>++	>++	+++	>++	+++	+++	+++
Saccharose	++++	++	++++	+++	<++	+++	+++	++++	>+++	++++
Xylose	++++	+++	++++	+++	++	+++	+++	++++	++++	+++
Polysaccharides:										
Dextrin	++++	<+++	<++	++	<+	++	++	+++	>+	<+
Inulin	++++	++	++++	+++	++	++	++	++++	++	<+
Starch	++	?	+	?	++	++	++	+++	+	++
Alcohols:										
Dulcitol	++	++			<++	++	<++	++	++	<++
Erythritol		++			>+	+++	++	++	+++	+
Ethyl alcohol	++		?	++	++	++	++	++	+	++
Glycerol	++++	++	++++	++	++	+++	+++	+++	++++	+++
Mannitol	+++	+++	++++	+++	++	++++	+++	++++	+++	++++
Propyl alcohol	+	0	+	>+	<++	++	++	+	+	+
Glycoside:										
Salicin	+++	++	+++	+++	++	+++	+++	++++	+++	+++
Saponin	++	?	>+	++	+	++	<++	++	++	++
Acids:										
Sodium acetate	++	<+		+·+	<++	+++	+++	>++	0	+
Na. butyrate	0		?	?	0		0	?	0	0
Na. citrate	++	++	+	<+	++	+	+	+	<+	<+
Na. formate	0			?	0	0	0	?	?	0
Na. malate	?			?	?	0	0	++++	+++	++++
Na. propionate	<+		?	?	?	<+	<+	?	?	0
Na. succinate	+++	>++	++	?	<+	+++	+++	+++	+++	+++
Na. tartarate	++	++	+	++	+	+·+	++	++	++	++
Miscellaneous:										
Potato slant	++	<++	++	++	?	++	+	+++	++	+
Yeast extract mannitol shake culture	+++	0	++	+	++	++	++	++	++	+++
Yeast extract mannitol slant culture	++++		+++	+++	+++	+++	+++	++++	++++	+++

0 = No growth. ? = Very slight growth. + = Slight growth.
++ = Medium growth. +++ = Good growth.

Bacteria on Certain Carbon Compounds. (Growth.)

Horse Gram I	Mat bean	Mung	Pilli-pesara 45	Gram I	Gram II	Cicer 67	Dh.	Dh. 10	Dh. 27	Dh. 52
++++	++++	++++	+++	++++	+++	++++	++++	++++	+++	0
+++	++	+++	+++	>+	+++	+++	++++	+++	++++	?
++++	>+	+++	>++	++	?	+++	++++	++++	+++	?
++++	>+	>++	+++	++++	+++	++++	++++	+++	+++	?
+++	>+	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	?
++++	++	++	+++	+++	+++	++++	++++	+++	+++	?
+++	>++	>++	+++	+++	+++	+++	++++	+++	+++	?
++++	++	++++	++++	+++	++	+++	++++	++++	+++	++
+++	>++	>++	++	++++	++++	+++	+++	+++	+++	+++
++++	<++	+++	+++	>++	+++	+++	++++	+++	+++	++++
++++	+++	+++	+++	+++	++++	++++	++++	+++	+++	++
+++	+	+++	++	+++	++	++	++++	++++	++	
+++	++	+++	++	++++	++++	>+	<+	+++	+	?
+++	++	+++	++	?	+	+	?	?	+	
<++	<++	++		+++	++	+++	+++	++	<++	
++	<++	++		++	+++	+++	+++	++	++++	
+	<++	<++	++	++	++		++	<++	++	++
++++	+++	+++	+++	++++	+++	++++	++++	+++	+++	0
++++	>++	+++	+++	+++	+++	+++	++++	+++	+++	0
++	+	+	++	>+	>+	++	>+	<+	>+	>+
+++	+	+++	>++	+++	+++	++	++	+++	+++	+
++	<++	+++	++	+++	++	<++	+++	+++	++	++
++	0	++	0	?	+	++	++	++	++	
0	?	?			0	?	?	?	?	0
<+	+	<+	+	?	?	+	++	+	+	++
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	?
+++	?	0	++	+++	<+++	+++	+++	+++	+++	?
0	?	?	?	<+	<+	?	?	?	?	?
+++	?	+++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	++
++	+	++	++	++	++	++	++	++	>+	++
++	?	?	?	++	>+	>+		++	<++	++
+++	+	++	++++	++++	+	++	+++	++	<+++	++
++++	++	++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++

++++ = Excellent or profuse growth.
Dh. = Dhaincha.

Table 2. The Fermentation Characters of Nodule

Compounds	Cow-pea I	Cow-pea 600	Cow-pea 601	Cow-pea 602	Dew Gram 34	Black Gram 1	Black Gram 2	Red Gram 39	Red Gram I	Red Gram II
Sugars:										
l-Arabinose	—	—	+++	——	+++	+++	+++	+++	<—	+++
Fructose	<++	<—	——	>—	<—	<—	—	—	——	<—
Glucose	+	——	——	——	+	+++	+++	+++	——	+++
Galactose	<++	———	<+	—	<—	+++	+++	+++	—	+++
Lactose	0	——	—	——	0	+++	+++	——	——	+++
Maltose	<+	——	——	——	—	——	+++	?	——	+++
Mannose	++	0	———	—	———	+++	+++	+++	———	+++
Raffinose	——	———	———	———	——	——	0	0	——	——
Rhamnose	+	——	0	<—	——	+++	+++	++++	——	<+
Saccharose	<—	——	<——	<——	>——	——	+++	>——	>——	+++
Xylose	———	——	———	——	+	+++	+++	+++	———	+++
Polysaccharides:										
Dextrin	0	——	>—	——	—	——	——	>—	——	>—
Inulin	<+	——	<——	——	——	——	——	——	——	<——
Starch	——	?	——	?	——	——	——	——	——	——
Alcohols:										
Dulcitol	<——	——			——	——	>—	——	<——	<——
Erythritol		0			——	—	—	0	———	>—
Ethyl alcohol	0		0	0	—	——	>——	——	0	<——
Glycerol	++	—	——	——	<+	<+	++	<+	<+	+
Mannitol	++	——	>—	——	++	—	0	>+	——	+++
Propyl alcohol	0		?	<—	<—	0	—	0	0	—
Glycoside:										
Salicin	+++	—	+	+	?	<+++	<+++	<+	+	+
Saponin	—	?	—	—	—	—	—	—	—	—
Acids:										
Sodium acetate	<—	—		——	—	—	—	——	0	——
Na. butyrate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Na. citrate	?	0	0	0	0	0	0		?	0
Na. formate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Na. malate	0		———	——	0	———	———	>———	———	———
Na. propionate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Na. succinate	>—	——	——	—	—	>——	—	——	——	——
Na. tartarate	—	—	>—	—	—	—	—	—	—	—

0 = No change. ? = Very little change. — = Slightly alkaline.
—— = Moderately alkaline. ——— = Strongly alkaline.

acidity when l-arabinose was used as a source of carbon. Such an observation was reported by Baldwin and Fred (2) on other media, the reaction was changed to alkalinity. It was intense when raffinose was used. It was least with lower alcohols, e. g., ethyl and propyl.

In the case of organic acids used as the source of carbon, the reaction

Bacteria on Certain Carbon Compounds. (Reaction.)

Horse Gram I	Mat bean	Mung	Pilli-pesara 45	Gram I	Gram II	Cicer 67	Dh.	Dh. 10	Dh. 27	Dh. 52
<−	+++	+++	+++	++++	+++	+++	<+	<+	+++	++
<−	−	>−	+++	++	+++	+++	<++	++	−−−	?
−−	−−	−−	+	++	?	+++	0	++	+++	?
+++	<+	−−−	+++	−−	+++	+++	>+	−−	+++	?
+++	>−	−−	+++	++	+++	+++	>++	<+	+++	?
0	>−	−−	0	++	+++	0	+	+	+++	+
−−−	−	−−−	+++	−−	+++	+++	+++	>+	+++	?
−−	−−	−−	−−	++	−−−	−−−	0	−−	−−−	−−−
+++	<−−	−−−	++	>++	+++	+++	+++	++	>++	+++
−−	>−−	>−−	−−	++	+	?	?	+++	+++	−
−−−	+++	+++	+++	+	+++	+++	0	−	+++	−−
−−	−	−	−−	+++	−−	−−	<+	+	−	−
−−	<−−	−−	−−	++	<++	−−	−	<+++	−−	?
−−	−−	−−	−−	?	−−	−−	−−	?	−	
>−	−−	−−		>−	−−	−−	0	−	<−	
>−	−−	−−		<−	−−	<−−	−−	−	−−	
0	0	0	−−	?	?	0	+++	0	−−	?
−	−−	−−	?	+++	<+++	+++	+	<+	++	?
0	−−	−−	+++	>++	+++	−−	+	<−	0	?
0	−	−−	0	<−	?	?	−−−	0	−	0
+	−−	++	0	?	?	+++	+++	?	−−	?
−	−	−	−	−	<−−	>−	<−	>−−	−−	−
−	0	−−	0	?	−	−−	−−	−−	−−	
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	?	0	?	<+	<+	?	?
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
−−−	0	0	−−−	−−−	>−−−	>−−−	−−−−	0	−−−	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
−	−	>−	>−−	−−	−−	−−	0	>−	0	>−
−	−	−	−	−	−	−	−	<−	−	−

Dh. = Dhaincha. + = Slightly acidic. ++ = Moderately acidic.
+++ = Strongly acidic. ++++ = Very strongly acidic.

was strongly alkaline, dispite poor growth, because the residual base was reponsible for this change in reaction.

The cultures of the Cicer group could be distinguished from those of Dhaincha by their ability to produce moderate alkalinity on the media containing succinic acid. Cicer cultures produced acidity on glycerol. Dhaincha

cultures could not bring about appreciably change in the reaction of the above two media.

Most of the cultures of the Cicer and Dhaincha groups produced acidity on many of the sugars used, and alkalinity on Dulcitol, Erythritol, Saponin etc.

Joshi reported (6) that the nodule bacteria could not utilise lactose as a source of energy. But, the results presented here clearly indicate that this sugar can be utilised as readily as any other sugar like fructose.

Summary.

1. Cultural and fermentation characters of various strains of nodule bacteria of the Cowpea, the Cicer and the Dhaincha groups were studied.

2. In addition to the old strain — slow growth and less gumy — three more new strains were isolated and described in the Cowpea group.

3. No marked differences in the morphological characters of the individual cells were observed.

4. The quick growing types of the Cowpea group could be distinguished from the old slow growing types by their ability to grow well and produce strong alkalinity on raffinose.

5. Moderately growing types were ill-defined in their fermentation characters. Some strains behaved like the slow growing types, while others reacted like quick growing ones.

6. Lower alcohols like ethyl and propyl are not so readily available as sources of energy as the higher alcohols.

7. Among acids, succinic acid is the best source for energy while malic and tartaric acids stood next in rank.

8. The cultures of the Cicer and Dhaincha groups could be distinguished from those of the Cowpea group in as much as the former could grow well on malic acid, erythritol and dulcitol.

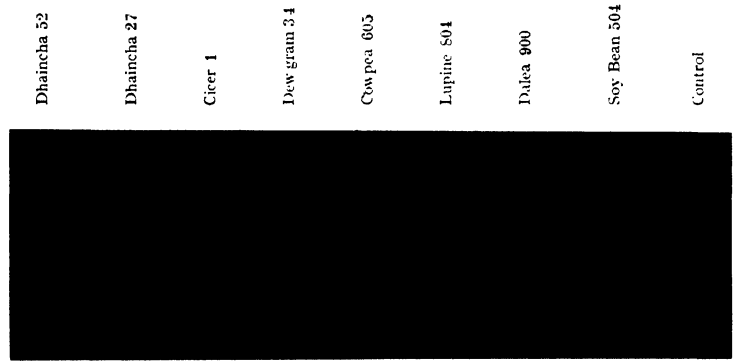
9. Cicer cultures produced alkalinity when succinic acid was used, while the Dhaincha cultures produced little or no change.

10. In general, the cultures of the Cowpea group, with a few exceptions, changed the reaction of the medium to alkalinity when sugars were used as a source of energy.

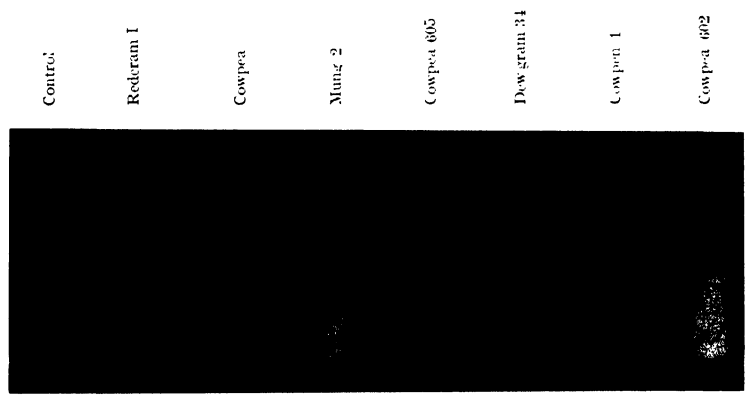
11. The Cicer and Dhaincha cultures produced acidity from sugars.

Bibliography.

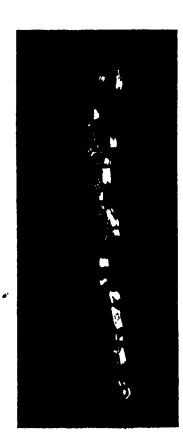
1. Almon, L., and Baldwin, I. L., Journ. Bact. Vol. 26. 1933. p. 229—250. — 2. Baldwin, I. L., and Fred, E. B., Soil Sci. Vol. 24. 1927. p. 217—230. — 3. Baldwin, I. L., and Fred, E. B., Journ. Bact. Vol. 17. 1929. p. 141—150. — 4. Fred, E. B., and Waksman, S. A., Lab. Manual of General Microbiology. New-York (McGraw-Hill Book Co.) 1928. p. 145. — 5. Fred, E. B., Baldwin, I. L., and McCoy, E., Root Nodule Bacteria and Leguminous Plants. (Univ. Wis. Studies Sci. Ser. No. 5. 1932. p. 343.) — 6. Joshi, N. V., Mem. Dept. Agric. India. Bact. Ser. Vol. 1. 1920. p. 247—276. — 7. Raju, M. S., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 94. 1936. S. 249—262. — 8. Raju, M. S., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 94. 1936. S. 329—348. — 9. Walker, R. H., Anderson, D. A., and Brown, P. E., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 86. 1932. S. 433—443.


Dhaincha 32
Dhaincha 27
Cicer 1
Dewgram 34
Cowpea 605
Lupine 504
Dalea 900
Soy Bean 504
Control

1


Control
Rederam I
Cowpea
Mung 2
Cowpea 605
Dewgram 34
Cowpea 1
Cowpea 602

2



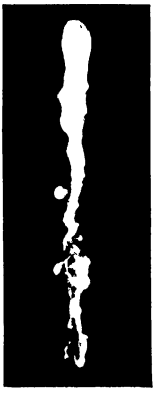
3

4

5

6

7



8

9

10

Verlag von Gustav Fischer in Jena

Explanation of Plates.

Streak growth on yeast-extract (marmite) mannitol agar plates. (Age 10 days. Size ⅔ natural.)

Plate I.

Fig. 1. Change in colour and production of Serum Zone in litmus milk. (Typical cultures of bacterial-plant groups.)

Fig. 2. Change in colour and production of Serum Zone in litmus milk. (Typical cultures of Cowpea group.)

Fig. 3. Pillipesara 45. Fig. 4. Horse Gram 1. Fig. 5. Cowpea 602.

Plate II.

Fig. 6. Red Gram 1. Fig. 7. Gram 2. Fig. 8. Cicer 67.

Fig. 9. Dhaincha. Fig. 10. Dalea.

Nachdruck verboten.

Ein parasitischer Mikroorganismus aus der Bienenkönigin.

[Aus der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem.]

Von **Zoltán Örösi-Pál** (aus Debrecen in Ungarn).

Mit 5 Abbildungen im Text.

Die Erforschung der Krankheiten der Bienenkönigin hat im Vergleich zu der der Brut und der Arbeiterinnen nur wenig Fortschritte gemacht. Der Hauptgrund hierfür ist, daß kranke Königinnen selten zur Untersuchung gelangen, da die Imker die fehlerhaft gewordenen Königinnen vernichten. Wenn solche dennoch einem Forschungsinstitut zugesandt werden, geschieht dies meistens im toten Zustand. Tote Königinnen zersetzen sich schnell und die Veränderungen täuschen Krankheitserscheinungen vor oder verdecken sie. Durch die liebenswürdige Hilfe von Herrn Prof. Dr. Borchert gelang es mir jedoch, eine größere Anzahl Königinnen von verschiedenen deutschen Bienenzüchtern in zur Untersuchung geeignetem Zustand zu erhalten. In legeunfähigen Königinnen fand ich wiederholt einen in der Honigbiene unbekannten Mikroorganismus.

Bei krankheitsverdächtigen Bienen, gleichgültig ob Arbeiterinnen, Königinnen oder Drohnen, werden gewöhnlich der Darmkanal, die Malpighischen Gefäße und die ersten Brusttracheen berücksichtigt, andere Organe werden aber vernachlässigt. Erst in der letzten Zeit wurde in einigen Fällen auch der Genitalapparat der Königin auf Krankheiten eingehender untersucht. Der von mir gefundene Mikroorganismus kommt außer im Darmkanal vor allem in den auf Krankheiten bisher wenig erforschten Körperteilen wie dem Blut, den Muskeln und Eierstöcken vor. Es scheint mir deshalb angebracht, einen kurzen Überblick über das Auftreten der verschiedensten Krankheitserreger in den genannten Körperteilen der Biene zu geben. Die Angaben über das Blut und die Muskeln als Sitz von Krankheitserregern beziehen sich meistens auf Arbeiterinnen. Viele Befunde, so z. B. die über die Faulbrutbakterien, sind mit Vorbehalt zu behandeln.

Historischer Rückblick.

Befunde im Blut. Über im Bienenblut gefundene Mikroorganismen hat als erster Leydig (1863) berichtet. Er fand in den Bluträumen des Kopfes einer

Arbeiterin zwei Mikroorganismen. Der eine war spindelartig, entweder gerade oder halbmondförmig gekrümmt, von der Größe des „farblosen menschlichen Blutkörperchens" und er konnte darin vier Scheidewände erkennen. Der andere war oval und die Länge betrug nur $^1/_8$ der ersten Form. Leydig hielt beide für Verwandte der Nosema bombycis. Seine Größenangaben sind kaum verwertbar, weil die „farblosen Blutkörperchen" verschieden groß sind. Der Befund von Leydig wurde von Pfeiffer (1895) unter Glugea zitiert und nach ihm von Labbé falsch als eine in den Muskeln der Honigbiene gefundene Nosema-Art angeführt. Es ist unwahrscheinlich, daß die beiden Keime von Leydig Nosema waren. Cheshire (1887) hat im Blut der Arbeiterinnen 2 Bazillen gesehen, einen kleinen, den er willkürlich für das Faulbrutbakterium Bac. alvei hielt, und ein großes Stäbchen. Im Blut der Königinnen fand er einen Mikrokokkus, der alle Organe befallen hat, und einen Mikroorganismus von unbestimmter Zugehörigkeit. Das Blut mit dem angeblichen Bac. alvei wurde aus lebenden Bienen von der abgeschnittenen Zunge genommen; in allen übrigen Fällen besteht der Verdacht, daß Cheshire verstorbene, in Verwesung übergegangene Exemplare untersucht hat. Fantham und Porter (1912) berichteten über das Vorkommen des als Darmparasit bekannten Mikrosporidiums Nosema apis Zander im Blut der Arbeitsbienen. Nach Bahr (1919) kommt das von ihm Bac. paratyphi alvei benannte Bakterium außer im Darmkanal auch im Blut der Arbeiterinnen vor. Burnside (1928) hat im Arbeiterinnenblut den Bac. apisepticus, als Erreger einer Bienenkrankheit, der „Septicemia", entdeckt. Mamelle (1931) erwähnt das Auftreten eines Kokkobazillus im Blut der Arbeitsbienen. Die Bienen starben unter Erscheinungen, die sich von den von Burnside beschriebenen unterschieden. Foresti (1933) fütterte eine Königin mit dem Faulbruterreger Bac. larvae und stellte im Blut morphologisch mit Bac. larvae übereinstimmende Stäbchen fest. Kostritsky [Metalnikov und Kostritsky (1933)] fand 2 krankheitserregende Bakterien im Blut kranker Arbeitsbienen; eine genauere Beschreibung der Reinkulturen gab er 1935.

Befunde im Ovarium. In der alten Literatur finden sich wiederholt Berichte darüber, daß in den Ovarien, der Samenblase und auch in den Eiern der Bienenkönigin Bac. alvei gefunden wurde [Cheshire (1887), Kenzie (1893), Cowan (1895), Harrison (1900)]. Bac. alvei war in jener Zeit das einzig bekannte Faulbrutbakterium. Es wurde angenommen, daß es durch die Eier der Königin in die Brut übergeht. Die Feststellungen über das Vorkommen des Bac. alvei in den Ovarien sind jedoch nicht einwandfrei. Die Königinnen waren für solche Untersuchungen nicht immer geeignet [Cowan (1895): „Die eingesandte tote Königin war sehr beschädigt, die Därme zerrissen ..."]. Die Untersuchungstechnik war sehr primitiv, so hat z. B. Cheshire (1887) die Bazillen in herauspräparierten Eiröhrchen ungefärbt und nur mit 250 facher Vergrößerung festgestellt. Die Keime sind willkürlich mit Bac. alvei identifiziert worden, meist ohne daß sie gezüchtet worden waren. Ob die Kulturen von Harrison Bac. alvei-Kulturen waren, scheint nach der Kritik von White (1906) fraglich zu sein. Foresti (1933) gibt an, daß er in den Ovarien, in der Samenblase und im Samenblasengang mit Bac. larvae gefütterter Königinnen morphologisch mit Bac. larvae übereinstimmende Stäbchen feststellen konnte. Seine Photoaufnahme über die Samenblase mit den Bazillen stellt aber einen Querschnitt des Dünndarmes dar, da ein stark gefaltetes Epithel und eine Ringmuskulatur vorhanden sind, das Tracheengeflecht hingegen fehlt. Sein von der „Samenblase" ausgehender „Samenblasengang" ist nichts anderes als eine tiefe Falte des Dünndarmepithels.

Fantham und Porter (1912) haben bei einer Königin auch die Ovarien mit Nosema apis infiziert gefunden.

Fyg (1934) entdeckte in den braun bis schwarz verfärbten Eierstöcken legeunfähiger Bienenköniginnen einen Pilz. Die Krankheit wurde von ihm Melanose benannt. Gontarski (1937) fand in den Ovarien einer legeunfähigen Königin einen anderen Pilz, der keine Verfärbung hervorgerufen hat.

Befunde in den Muskeln. Nosema apis infiziert nach Morgenthaler (1926) in schweren Fällen auch die Muskeln des Mitteldarmes. Manchmal habe auch ich diesen Eindruck gehabt; es ist aber schwer zu sagen, ob die Parasiten in den Epithelzellen in der unmittelbaren Nähe der dünnen Muskeln sitzen oder in den Muskeln selbst.

Vollständigkeitshalber ist noch zu erwähnen, daß durch Impfung von verschiedenen Pilzen [Burnside (1930), Fyg (1936)] und von Bac. larvae

[Foresti (1933)] in die Blutbahn die Keime auch in Organen auftreten, wo sie unter natürlichen Verhältnissen nicht zu finden sind.

Material und Methode für eigene Untersuchungen.

Der neu entdeckte Parasit wurde in drei Königinnen gefunden. Ihre Lebensgeschichte ist wie folgt: Königin Nr. 6 wurde am 28. 8. 1937 eingesandt. Sie war mit einem farbigen Stanniolplättchen gezeichnet[1]), war 43 Tage alt und hatte bisher noch keine Eier gelegt. Königin Nr. 16 erhielten wir am 6. 9. 1937; sie war ungezeichnet, angeblich 2 Jahre alt und nicht mehr legefähig. Königin Nr. 47 wurde uns am 22. 4. 1938 zur Verfügung gestellt; sie stammt nach der Stanniolzeichnung aus dem Jahre 1937, war im vergangenen Herbst bei guter Spätsommerbrut in Ordnung, legte aber in diesem Jahr keine Eier.

Die Königinnen wurden in Bouinscher Flüssigkeit fixiert. Kopf, Brust und Hinterleib wurden voneinander getrennt, um das Eindringen der Flüssigkeit zu erleichtern. Vor dem Einbetten in Paraffin wurde der Hinterleibspanzer vorsichtig abgeschält. Die Brust habe ich im ganzen eingebettet und den chitinösen Panzer im Paraffinblock abgeschnitten. Auf diese Weise haben die Organe und zwischen ihnen das Blut ihre Lage während der Verarbeitung behalten; dadurch konnte auch die Fehlerquelle vermieden werden, daß bei der Präparierung Keime aus dem verletzten Darmkanal auf die Eierstöcke und zwischen die Eiröhrchen gelangten. Die Kopforgane aber mußten aus der Kopfkapsel vor dem Einbetten herauspräpariert werden, so daß hier auf eine Blutuntersuchung in Schnitten verzichtet werden mußte. Die Schnitte wurden nach der von Fyg (1934) für die Melanose empfohlene modifizierte Färbung (Hämatein, Fuchsin, Goldorange) gefärbt. Diese Methode stellte den Parasiten sehr schön elektiv rot in den gelben Geweben dar, war aber zur Untersuchung der feineren Einzelheiten nicht hinreichend. Die Giemsafärbung gelang nicht einwandfrei, wahrscheinlich wegen des Pikrinsäuregehalts der mit Bouin fixierten Objekte. Aus diesem Grunde konnten besonders die Kernverhältnisse nicht befriedigend untersucht werden. Die Schnittpräparate haben die Ausstriche nicht vollkommen ersetzt. Es war nicht möglich Ausstriche anzufertigen, da kein weiteres Material vorhanden war. Auch Infektionsversuche konnte ich mit dem fixierten Material nicht durchführen, der Entwicklungsgang war also nicht festzustellen.

Der Parasit.

Der von mir gefundene Parasit macht den Eindruck eines Sporozoons. Für eine sichere Feststellung seiner Zugehörigkeit sind meine Untersuchungen jedoch wegen der oben aufgeführten Schwierigkeiten noch nicht ausreichend. Auch die Frage muß ich offen lassen, ob er eine neue Art ist oder aus einem anderen Wirtstier schon beschrieben wurde.

Als jüngste Entwicklungsform können wir wahrscheinlich einen kleinen, schmalen Keim ansehen. Er ist manchmal halbmond-, manchmal schleifsteinförmig mit einer Größe von 2,5—3,3 μ × 0,8 μ (Abb. 1 a, b). Die unter

[1]) Die Königinnen werden nach dem Ausschlüpfen an der Rückenseite der Brust mit jährlich wechselnden Farben gezeichnet, um daran das Alter zu erkennen. Für wissenschaftliche Untersuchungen, bei denen es wichtig ist, das Jahresalter der Königinnen zu wissen, sind also möglichst gezeichnete Königinnen erwünscht. Das Zeichnen der Königinnen ist aber leider noch nicht genug verbreitet. Die Mehrzahl der uns eingesandten Königinnen war ungezeichnet.

Abb. 1 d, e, f, g abgebildeten Entwicklungsformen ähneln mehrkernigen Meronten. Sie sind länglich, an den Enden abgerundet, seltener zugespitzt und 5—6,6 μ × 1,3—2,6 μ groß. Das Plasma ist manchmal ziemlich stark vakuolisiert. In ihm kommen kernartige, dunkler gefärbte Gebilde vor.

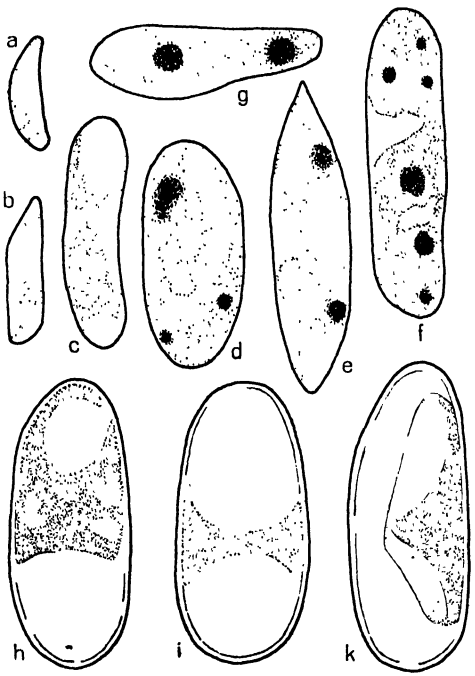


Abb. 1. Entwicklungsformen des Parasiten. Erklärung im Text. (Zeichnung von Örösi-Pál, 5000 mal vergrößert.)

Die Sporen (Abb. 1 h, i, k) sind länglich-oval mit abgerundeten Enden. Ihre Größe variiert mehr in der Länge als in der Breite: 5—6,8 μ × 2,3—2,5 μ. Die Schale einer jungen Spore wird gleichmäßig von dem Keim ausgefüllt. Bei älteren Sporen findet man in der blassen Schale an beiden Enden Vakuolen (Abb. 2), die eine beträchtliche Größe erreichen (Abb. 1 h, i) und miteinander in Verbindung treten können (Abb. 1 k). Der deutlich gefärbte Keim beschränkt sich hauptsächlich auf die Mitte der Spore. Hier liegt er ringförmig. Bei einigen Sporen war der Keim an einer Längsseite der Sporenschale zu sehen (Abb. 1 k). — Die Größe, Form und oft auch das allgemeine Aussehen der Spore ähneln denen der Spore von Nosema apis. Ein Polfaden konnte nicht festgestellt werden.

Vorkommen des Parasiten in den Bienenköniginnen.

Der Parasit wurde in folgenden Körperteilen gefunden: 1. Eingebettet im fixierten, hart gewordenen Blut (Abb. 2). Bei Königin Nr. 6 war das Rückengefäß mit den Tergiten nicht entfernt worden, so daß auch dieses in Schnitten untersucht werden konnte. Der Parasit kam auch im Lumen des Rückengefäßes und vereinzelt in den Pericardialzellen vor. 2. In den Geweben der Eierstöcke. 3. In den Eizellen und Eiern (Abb. 3, 4). 4. In den Nährzellen und zwar sowohl im Zytoplasma (Abb. 5), als auch in den großen Kernen selbst. 5. In den Follikelzellen (Abb. 3). 6. In den Mitteldarmzellen und im Darmlumen vereinzelt. 7. In den Dünndarmzellen vereinzelt, nicht aber in der Nähe der Malpighischen Gefäße, wo Nosema apis zu finden ist, sondern in den weiter hinten liegenden Teilen. 8. In den hohen Zellen der Rectalpapillen vereinzelt. 9. In den großen Flugmuskeln der Brust. — Der Parasit trat in den genannten Organen nicht massenhaft auf, sondern lag ziemlich verstreut. In den Königinnen konnten sonst keine anderen Krankheitserreger nachgewiesen werden.

Krankheitserscheinungen bei den Königinnen.

Veränderungen, die einen pathologischen Charakter zu haben scheinen, wurden nur in den Ovarien gefunden, wahrscheinlich, weil der Parasit sich noch in keiner der untersuchten Königinnen stark vermehrt hatte.

1. Die Veränderungen der Ovarien waren z. T. von der Art, wie ich sie bei nicht eierlegenden Königinnen auch ohne Parasiten festgestellt habe. In diese Gruppe gehören: a) die starke Vakuolisierung einiger Eizellen und Eier. Die Vakuolen sind manchmal klein und zahlreich, manchmal groß, da sich das Innere der Zelle in eine riesige einheitliche Vakuole aufgelöst hat. Die Vakuolen sind in Dauerpräparaten leer, oder fast leer mit wenigen Plasmaresten und Eiweißkügelchen; oder sie sind mit einer homogenen Masse gefüllt, die sich mit Plasmafarbstoffen gut färben läßt. b) In einigen Eizellen findet man glasig-lichtbrechende, stark gewundene Linien, die als Schnitt einer erstarrten fremden Masse in der Zelle erscheinen. Ähnliche Bilder habe ich bei Eileiterverstopfung auch in den

Abb. 2. 2 Sporen im Blut zwischen den Eiröhrchen. (Phot.: Örösi-Pál, 800 mal vergrößert.)

Abb. 3.

Abb. 4.

Abb. 5.

Abb. 3. Teil eines Eiröhrchens; ein Parasit im Follikel, ein anderer neben ihm in der Eizelle (Pfeilrichtung). In der Eizelle auch Eiweißkügelchen. (Phot.: Örösi-Pál, 800 mal vergrößert.)

Abb. 4. Teil einer Eizelle mit einem Parasiten (Pfeil). Außerdem zahlreiche Eiweißkügelchen. (Phot.: Örösi-Pál, 800 mal vergrößert.)

Abb. 5. Teil einer Nährkammer; in einer Nährzelle in der Nähe des hellen Kernes ein Parasit. (Phot.: Örösi-Pál, 800 mal vergrößert.)

Eileitern gesehen. Ob die Linien in allen diesen Fällen den gleichen Ursprung haben, ist mir noch nicht bekannt. Sie sind nicht mit den Eischalen degenerierter Eier identisch.

2. Zur zweiten Gruppe der Veränderungen gehören: a) Das Auftreten brauner Körnchen im Gewebe der Eierstöcke und im Eiröhrcheninhalt (Eizellen, Nährzellen, seltener auch in undifferenzierten Zellen). b) Eine braune Verfärbung der Gewebe des Eierstockes und des Eiröhrcheninhaltes. Hierbei waren nicht nur die Zellen, sondern auch die glasigen Linien braun. c) Ein Zerfall der Zellelemente im Eiröhrcheninhalt, der in den Nährkammern oft durch das Verschmelzen der Nährzellen eingeleitet wird.

Bei der ganz jungen aber am schwersten infizierten Königin Nr. 6 traten am auffallendsten die Veränderungen der zweiten Gruppe in Erscheinung, sie waren aber nur auf wenige Teile der Eierstöcke beschränkt. Bei dieser Königin fiel schon bei dem Abschalen des Hinterleibpanzers ein ungefähr 2 mm langer schwarzer Streifen an einem Eierstock auf. In den in Schnitte zerlegten Eierstöcken wurden noch einige solche Teile gefunden. Die Farbe erschien in den Schnitten schokoladenbraun. Es kamen kompakte braune Körnchen von verschiedener Größe und Gestalt vor, die auf einem diffus braun gefärbten Untergrund der z. T. zerfallenen Zellen lagen. Die Mehrzahl der Eiröhrchen zeigte keine nennenswerten Veränderungen.

Bei den älteren Königinnen Nr. 16 und Nr. 47 war die Verfärbung weniger vorgeschritten, dafür aber waren die Erscheinungen der ersten Gruppe deutlicher wahrzunehmen.

Alle drei infizierten Königinnen waren legeunfähig. Besonders Königin Nr. 6 und Nr. 47 waren noch so jung, daß eine physiologische Sterilität unwahrscheinlich ist. Es ist anzunehmen, daß bei der Legeunfähigkeit die Infektion eine Rolle spielt. Diese Annahme muß durch Infektionsversuche und weitere Befunde noch bewiesen werden.

Differentialdiagnose.

Der Parasit kann am leichtesten mit Nosema apis verwechselt werden, besonders in den Mitteldarmzellen. Für die Unterscheidung können folgende Merkmale dienen: 1. Bei den mit Nosema apis infizierten Bienenköniginnen ist der Mitteldarm der Hauptsitz des Parasiten. Der neue Parasit aber bevorzugt das Blut und die Eierstöcke. 2. Bei Nosema apis kommen große, mehrkernige, auch unregelmäßig geformte Meronten vor, die die Länge einer Spore weit übertreffen. Bei dem neuen Parasiten sind die Entwicklungsformen ungefähr so groß oder kleiner als die Spore.

Die von Fantham und Porter (1914) beschriebene Nosema bombi infiziert sowohl bei Hummeln als auch bei der Honigbiene hauptsächlich die Malpighischen Gefäße. Im Blut und in den Eierstöcken kommt sie nach Fantham und Porter nicht vor.

Es sind ferner Verwechslungen mit dem bei der Melanose vorkommenden Pilz möglich, weil beide in den Eierstöcken zu finden sind und, nach Fyg gefärbt, die gleiche rote Farbe haben. Als Unterschiede können gelten: 1. Der Melanoseerreger von Fyg ist in Form und Größe sehr variabel. Es kommen kleine hefeähnliche Keime, Oidien, Hyphen, runde bis ovale braune Chlamydosporen vor. Der neue Parasit ist aber in Form und Größe konstanter, Hyphen kommen nie vor, die sporenähnlichen Formen sind nicht braun und unterscheiden sich auch durch die schmale ovale Form von den rund-

lichen Chlamydosporen. 2. Der Melanoseerreger von Fyg tritt nach allen bisherigen Erfahrungen (Fyg 1934, Örösi-Pál 1936, Rytič 1937) nicht in den Ei- und Nährzellen auf, sondern beschränkt sich in den Eierstöcken auf die Gewebe. 3. Bei der Melanose im Sinne von Fyg können sich in den befallenen Geweben schwarze Cysten bilden (Fyg 1934, Rytič 1937). Bei dem Befall mit dem neuen Parasiten kamen keine Cysten vor. 4. Auch der Eiröhrcheninhalt verfärbt sich, was bei der Melanose im Sinne von Fyg nicht der Fall ist.

Übertragbarkeit des Parasiten durch das Ei.

Die Tatsache, daß der Parasit in den Eiern zu finden ist, wirft die Frage auf, ob er durch das Ei auf die Nachkommenschaft übergeht. Die von mir untersuchten Königinnen waren legeunfähig. Es ist aber denkbar, daß eine Königin in der Zeit, wenn die Vermehrung des Parasiten noch wenig vorgeschritten ist, infizierte Eier ablegt.

Für wahrscheinlich halte ich es, daß die sehr spärlichen Angaben, die auf die Möglichkeit einer erblichen Übertragung der Nosema apis hinweisen, sich auf den von mir gefundenen Parasiten beziehen. Die beim Seidenspinner vorkommende Nosema bombycis Nägeli infiziert nicht nur die Darmzellen, sondern verbreitet sich durch die Blutbahn und befällt auch die Eier in den Eierstöcken, so daß die Krankheit durch die Eier übertragen wird. Die Verwandte Nosema apis Zander hingegen gilt als Parasit des Darmkanals und der Malpighischen Gefäße. Über das Vorkommen von Nosema apis im Blut und in den Eierstöcken berichteten nur Fantham und Porter (1912). Ferner finden wir bei Buttel-Reepen (1919) folgende Bemerkungen:

„. . . Es sind mir gelegentlich der Untersuchung von Bieneneiern auf die Befruchtungserscheinungen hin, deren Resultate ich in früheren Arbeiten niedergelegt habe, viele tausende von Bieneneierschnitten durch die Hände gegangen, aber niemals habe ich bei meinem eigenen Material Infektionserscheinungen dieser Art bemerkt, wohl aber sah ich unter dem gleichen Material des Kollegen Petrunkewitsch, als wir in Freiburg i. Br. seine bezüglichen Schnitte auf ein besonderes Stadium der Befruchtungsvorgänge durchforschten, ein ovales Körperchen auf dem Schnitte liegen, das wir nur als einen „Parasiten" erklären konnten, ohne damals imstande zu sein, etwas aus dem Funde machen zu können. Das außerordentlich Merkwürdige dieser Beobachtung prägte sich mir aber mit größter Schärfe ein und steht so lebendig vor mir, als sei die Beobachtung erst gestern erfolgt und nicht vor ca. 20 Jahren. Ich bezweifle nicht, daß dieser „Parasit" eine Nosema-Spore gewesen ist und, sowie es möglich ist (Petrunkewitsch weilt seit vielen Jahren in Amerika), werde ich ihn bitten, eine getreue Abbildung und Ausmessung zu machen, da das Material noch vorhanden sein dürfte. Das immerhin Unbestimmte dieser Beobachtung hat mich bisher abgehalten, darauf hinzuweisen. Wenn ich es dennoch an einer, ich möchte sagen, mehr neutralen Stelle tue, so leitet mich lediglich die Erwägung, daß diese Erwähnung aufs neue die Aufmerksamkeit auf die Möglichkeit der Vererbung der Nosema-Krankheit durch die Königin hinlenken dürfte und weitere Beobachtungen hervorrufen möchte. . . ."

Ich glaube, daß Fantham und Porter im Blut und in den Eierstöcken und Buttel-Reepen im abgelegten Bienenei den der Nosemaspore so ähnlichen neuen Parasiten gesehen haben.

Die von Fantham, Porter (1912) und Maaßen (1919) beschriebene Nosemaerkrankung der Bienenbrut könnte entweder durch den neuen Parasiten erklärt werden, der durch das Ei auf die Brut übertragen wurde, oder aber die Larven konnten die Nosemasporen mit der Nahrung aufnehmen. Diese Befunde beweisen also nicht die erbliche Übertragung der Nosema apis.

Bei der Weiterforschung der Übertragbarkeit der Nosema apis durch die Eier wäre künftig auf die Artbestimmung des Parasiten besonderer Wert zu legen.

Zusammenfassung.

1. In legeunfähigen Bienenköniginnen wurde ein parasitischer Mikroorganismus entdeckt.

2. Der Parasit macht den Eindruck eines Sporozoons; seine systematische Stellung konnte aber nicht sicher festgestellt werden. Die Sporen können wegen ihrer Gestalt, Größe und ihres allgemeinen Aussehens mit der Spore der Nosema apis Zander verwechselt werden.

3. Der Parasit kommt im Darmepithel (Mitteldarm, Dünndarm, Rectalpapille), im Blut, in den Eierstöcken (Gewebe, Eizellen, Nährzellen) und in den großen Flugmuskeln der Brust vor.

4. In einigen Teilen der Eierstöcke wurden braune Körner (auch in den Eizellen und Nährzellen), eine braune Verfärbung der Zellen und eine Degeneration des Eiröhrcheninhalts festgestellt.

Literatur.

Bahr, L., Paratyfus hos Honningbien. (Skandinavisk Veterinär-Tidskrift. Bd. 9. 1919. S. 25—60.) — Burnside, C. E., Fungous diseases of the honeybee. (U. S. D. A. Washington, Techn. Bull. Nr. 149. 1930. p. 1—42.) — Burnside, C. E., Septicemia of the honeybee. (IV. Intern. Congr. Entom. Vol. 2. 1929. p. 757—767) und A septicemic condition of adult bees. (Journ. econ. Entom. Vol. 21. 1928. p. 379—386.) — Buttel-Reepen, Der heutige Stand der Forschung über die Bruterkrankungen (Faulbrut, Steinbrut usw.) und die Maikrankheit (Sandläuferei, Tollkrankheit) der Honigbiene. (Bienenwirtsch. Centralbl. Bd. 55. 1919. S. 24—31.) — Cheshire, Frank R., Bees and Beekeeping. Vol. 2. London, ohne Jahr. (Das Buch erschien in Lieferungen und war Ende 1887 vollständig.) — Cowan, Th. Will., Foul brood in ovaries of queen. [Anonyme Antwort des Schriftleiters an Thos. A. Govan in der Rubrik „Notices to correspondents and inquirers".] (Brit. Bee Journ. Vol. 23. 1895. p. 434.) — Fantham, H. B., and Porter, Annie, The morphology and life history of Nosema apis and the significance of its various stages in the so-called „Isle of Wight" disease in bees (Microsporidiosis). (Ann. Tropic. Med. a. Parasitol. Vol. 6. 1912. p. 163—195.) — Fantham, H. B., and Porter, Annie, The morphology, biology and economic importance of Nosema bombi n. sp., parasitic in various humble bees (Bombus spp.) (Ann. Tropic. Med. a. Parasitol. Vol. 8. 1914. p. 623—638.) — Foresti, C., Ricerche sulla trasmissione della peste americana attraverso l'ovaia dell' ape regina. (Riv. di Apicoltura. Vol. 2. 1933. Seitenzahl des Sonderdrucks 1—24.) — Fyg, W., Beitrag zur Kenntnis der sog. „Eischwarzsucht" der Bienenkönigin. (Landwirtsch. Jahrb. d. Schweiz. Bd. 48. 1934. S. 65—94.) — Fyg, W., Eine Methode zur subkutanen Impfung von Bienenköniginnen als Hilfsmittel beim Studium der Melanose. (Landwirtsch. Jahrb. d. Schweiz. Bd. 50. 1936. S. 867—880.) — Gontarski, H., Beitrag zur Pathologie der Bienenkönigin (Apis mell.). (Dtsch. Imkerführer. Bd. 11. 1937. S. 54—56.) — Harrison, C. Fr., The foul brood of bees. Bacillus alvei (Cheshire and W. Cheyne). (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Orig. Bd. 6. 1900. S. 421—427, 457—469, 481—496, 513—517. Über das Vorkommen des Bac. alvei in den Ovarien S. 484—485.) — McKenzie, J. J., Ontario Agricult. Coll. Report. Toronto 1893. Zitiert von Harrison, 1900. — Kostritsky, L., Contribution à l'étude d'une nouvelle maladie des abeilles adultes provoquée par trois microbes pathogènes. (Bull. Acad. vét. France. [N. S.] T. 8. 1935. p. 214—222.) — Labbé, Alphonse, Sporozoa. (Das Tierreich. 5. Lief. Berlin 1899.) — Leydig, Fr., Der Parasit in der neuen Krankheit der Seidenraupe noch einmal. (Arch. f. Anat., Physiol. u. wissensch. Med. 1863. S. 186—192.) — Maaßen, A., Weitere Mitteilungen über Bienenkrankheiten und ihre Bekämpfung. (Mitteil. d. Biol. Reichsanst. f. Land- u. Forstwirtsch. H. 17. 1919. S. 37—45.) — Mamelle, Th., Deux septicémies de l'abeille. (L'Apiculeur. T. 75. 1931. p. 193—196.) — Metalni-

kov, S., et Kostritsky, L., Contribution à l'étude des maladies des abeilles. (Compt. rend. Soc. Biol. T. 114. 1933. p. 1290—1291.) — Morgenthaler, O., Bienenkrankheiten im Jahre 1925. (Schweiz. Bienenztg. Bd. 62. 1926. S. 176—180.) — Örösi-Pál, Z., Über die Melanosekrankheit der Honigbiene. (Ztschr. f. Parasitenkde. Bd. 9. 1936. S. 125—139.) — Pfeiffer, L., Die Protozoen als Krankheitserreger. Nachträge. Jena 1895. — Rytiř, Jaroslav, Melanosa včely medonosné. (Včelarsky sbornik. Praha. Bd. 1. 1937. S. 39—49.) — White, G. F., The bacteria of the apiary. (U. S. D. A. Bur. of Entom. Washington, Techn. Ser., Nr. 14. 1906. p. 1—50.)

Referate.

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virusuntersuchungen.

Corberi, E., Ricerche sopra i cocchi acido-proteolitici del Gorini. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 9. 1938. S. 95—115.)

Es wurden 6 Stämme der Gorinischen acidoproteolytischen Kokken untersucht: Mammococcus I, II und 50 (aus den ersten Tropfen einer aseptisch gemolkenen Milch), Gastrococcus I und II (aus Rinderlab) und Caseococcus I (aus reifendem Granakäse). Sie verhalten sich ziemlich ähnlich, sind alle Gram-positiv, häufig Kaffeekörnerförmig oder leicht verlängert; ein Stamm ist leicht kettenförmig. Größe 0,5—1,5 μ, Optimaltemperatur 37° C. Bestes Medium Milch, die nach 24 Std. von allen koaguliert wird; danach Peptonisierung des Gerinnsels unter mehr oder weniger Gelbfärbung der Lösung. Alle sind fakultativ aerob. Mamm. I verflüssigte zum Unterschied von den anderen Gelatine nicht.

Gegen saure und alkalische Umgebung (p_H 4—8) sind sie recht widerstandsfähig; verdaute Milch erreicht ein p_H-Maximum von 4,4—4,6. 5—6% Kochsalz verhindert Entwicklung mit Ausnahme von Mamm. I, der sich noch in 9% NaCl entwickelt. Im Abbau des Milcheiweißes erscheint kein Unterschied zwischen den Stämmen; nur bei 3,5% Kochsalz wird die Proteolyse von Caseoc. I verlangsamt, die von Mamm. I beschleunigt. Die Agglutinationsprobe erwies die Stämme als ähnlich. 65° C tötet alle ab.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die 6 Kokkentypen morphologisch und biologisch kaum verschieden sind und gemäß Gorinis Anschauung als eine verhältnismäßig einheitliche Gruppe betrachtet werden müssen. Rippel (Göttingen).

Hassouna, M. M., and Allen, L. A., The influence of conditions of culture and of different nutrient substrats on the characters of lactic acid streptococci. (Annual. Soc. of Agric. Bacteriologists, Edinburgh. 1937.)

Streptococcus lactis, S. cremoris, S. paracitrovorus, S. diacetilactis, S. mastitidis, Leuconostoc mesenteroides, und Streptokokken aus Säurewecker, Sauermilch und Süßmilch wurden 18 Monate hindurch auf verschiedenen Nährböden gezüchtet. Es war nach dieser Zeit ihr Verhalten gegenüber 14 Zuckerarten unverändert. Molkenagar wurde durch einen Zusatz von 0,3% Hefeextrakt für die Züchtung der genannten Bakterien besser geeignet. Peptisch verdautes Kasein eignete sich als Stickstoffquelle besser als tryptisch verdautes. Für Stammkulturen hat sich Robertsons gekochtes Fleisch als recht brauchbar erwiesen. In ihrem Verhalten gegen die Zuckerarten blieben

S. lactis, S. cremoris, S. paracitrovorus und Leuc. mesenteroides unverändert, gleichgültig ob als Stickstoffquelle 0,3% Hefeextrakt und 1% Pepton oder 0,5% Pepton, 0,3% „Lemco" und tryptisch verdautes Kasein geboten wurde. Nach dem Verhalten der genannten Bakterien gegenüber der Zuckerreihe war es belanglos, ob die Zucker durch Filtration (Berkefeld-Filter) keimfrei gemacht wurden und so den Nährböden (Hefewasser oder Kasein-Nährboden) zugesetzt wurden, oder mit den Nährböden an 3 Tagen 30 Min. im strömenden Dampf erhitzt wurden. Die nach Orla-Jensen bei der Erhitzung von Zucker gebildeten Aktivatoren haben in den genannten Nährböden keine Rolle gespielt.

A. Janoschek (Weihenstephan).

Greene, H. C., Colony organization of certain bacteria with reference to sporulation. (Journ. Bact. Vol. 35. 1938. p. 261—274.)

An gefärbten Schnitten durch Kolonien von Clostridium acetobutylicum, Clostridium pasteurianum und Bacillus acetoethylicum wurde der Gang der Sporenbildung in den Kolonien untersucht, und zwar unter vergleichbar konstanten Bedingungen und bei dem Bacillus außerdem unter wechselnden Kulturbedingungen. Im Agar gewachsene Kolonien von Cl. acetobutylicum bildeten hauptsächlich am Rande Sporen, auf der Agaroberfläche dagegen nur in der Mitte und im unteren Teil der Kolonie. Untergetaucht wachsende Kolonien von Cl. pasteurianum sporulieren sehr reich, aber ohne besondere Bevorzugung bestimmter Orte innerhalb der Kolonie. Bei oberflächlichem Wachstum wurde vom Rand der Kolonien zur Mitte hin ein allmählicher Übergang von jungen vegetativen Zellen über junge Clostridien bis zu reifen Sporen beobachtet. Bac. acetoethylicum bildet reichlich Sporen nur unter aeroben Bedingungen, während im Agar wachsende Kolonien nur am Rande Sporen enthalten. Die Intensität der Sporenbildung und die durch sie bevorzugten Stellen wechseln außerdem mit der Zusammensetzung des Nährbodens.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Chance, H. L., Mitosis-like activity in Bacillus sp. A preliminary report. (Journ. Bact. Vol. 35. 1938. p. 347—351.)

Von Kulturen eines aus Erde isolierten Bazillus, der wahrscheinlich identisch ist mit Bac. mesentericus, wurden zu verschiedenen Zeiten Ausstriche angefertigt, die mit Nigrosin reduziert, sodann fixiert und mit dem oxydierenden Farbstoff Rosanilinchlorhydrat gefärbt wurden. Auf diese Weise wurden die Zellen aus verschieden alten Kulturen in verschiedener Weise gefärbt. Zwei Stunden alte Kulturen enthielten noch sehr viele ungefärbte Zellen. Nach 3 Std. waren in diesen ein bis zwei stark gefärbte runde Körperchen sichtbar, die nach etwa 6 Std. teilweise Hantelform angenommen hatten. Es folgte dann allmählich die Sporenbildung. Bemerkenswert ist, daß die Zeit, zu der die hantelförmigen Gebilde sichtbar waren, zusammenfällt mit der Hauptwachstumsphase der Kultur. Es scheint jedoch gewagt, aus den beigefügten Abbildungen weitreichende Schlüsse zu ziehen.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Tittsler, R. P., and Berry, G. P., The electrophoretic migration velocity of Escherichia coli after cultivation on media of varying composition. I. Observation

following changes in organic constituents. II. Observations following changes in inorganic constituents. (Journ. Bact. Vol. 35. 1938. p. 213—222 u. 441—451.)

Die elektrisch gerichtete Wanderungsgeschwindigkeit der Coli-Bakterien blieb stets die gleiche, wie sehr auch der Nährboden hinsichtlich seiner organischen und anorganischen Bestandteile verändert wurde. Verff. folgern daraus, daß der Einfluß der verschiedenen Nährbodenbestandteile auf die physiko-chemische Beschaffenheit der Zelle nicht tiefgreifend, sondern reversibel sei. Nur eine von allen geprüften chemischen Substanzen machte hiervon eine Ausnahme, nämlich Lithiumchlorid. Offenbar beeinflußt dieses die Zelle so irreversibel, daß auch ihre Wanderungsgeschwindigkeit eine andere wird. Jedoch bedarf es zur endgültigen Klärung der Frage noch weiterer Untersuchungen. Bortels (Berlin-Dahlem).

Meyer, R., Weitere Beiträge zur Kenntnis der Cellulosezersetzung unter niedriger Sauerstoffspannung. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 9. 1938. S. 80—94.)

Es werden anaerobe Cellulosezersetzer verschiedener Herkunft untersucht, die grundsätzlich übereinstimmten. Vor Beginn der Gärung wird der Sauerstoff der über der Gärflüssigkeit stehenden Luft verbraucht. In diesem Stadium finden sich Formen, die den Charakter eines sporenbildenden, aeroben Bakteriums tragen und auch aerob in Bouillon wachsen. Die Sporenmutterzelle besitzt dann nicht Trommelschlegelgestalt. Es wird vermutet, daß der anaerobe Cellulosezersetzer in dieser Form bereits als aerober Sporenbildner aus Erde isoliert und beschrieben ist, Cellulose sozusagen nur im „Notfalle" angreift.

Methan wird nur in unerhitzten Kulturen und nur in Mengen gebildet, die den Analysenfehler kaum übersteigen. Wasserstoff wird, ganz unabhängig von den äußeren Kulturbedingungen, spontan in manchen Kulturen gebildet, in anderen nicht. Die Kohlensäure stammt zum überwiegenden Teil nicht unmittelbar aus der Cellulose, sondern wird durch die gebildeten organischen Säuren aus dem Calciumcarbonat in Freiheit gesetzt.

Rippel (Göttingen).

Kresling, E., Die Oxydation des Sorbits durch Mikroorganismen. (Mikrobiologie. Bd. 6. Folge 7. 1937. S. 898—901.) [Russisch.]

Das Studium des Oxydationsprozesses von Sorbit zu Sorbose durch Acetobacter xylinum, Ac. xylinoides, Ac. suboxydans, Ac. mesoxydans, Ac. melanogenum zeigte, daß der Prozeß am besten mit dem letztgenannten Bakterium verläuft. Unter sterilen Bedingungen dauert er etwa 6—8, unter nicht sterilen 3—5 Tage, die Sorboseausbeute beträgt 80—93%. Die Ausgangskonzentration des Sorbits kann bis auf 20% erhöht werden, wodurch der Prozeß bedeutend beschleunigt wird. M. Gordienko (Berlin).

Kimball, G. C., The growth of yeast in a magnetic field. (Journ. Bact. Vol. 35. 1938. p. 109—122.)

Wenn ältere Hefezellen auf einen geeigneten festen Nährboden so aufgebracht werden, daß sie im magnetischen Feld eines kleinen Hufeisenmagneten liegen, wird die Sproßbildung um 20—30% verzögert. Zwischen Hefe und Magneten angebrachte Glas- oder Paraffinplättchen vermögen diesen

Einfluß nicht auszuschalten, wohl aber Eisenplättchen. Das nicht magnetische Ende des Hufeisenmagneten ist wirkungslos. Die Hefezellen reagieren auf die magnetischen Kräfte nur während der zweiten Hälfte der Ruhephase, also kurz vor der Bildung eines neuen Sprosses. Es hat sich ferner gezeigt, daß nicht jedes magnetische Kraftfeld, sondern nur das heterogene den hemmenden Einfluß ausübt, das also auf magnetisierbare Teilchen nicht nur ausrichtend, sondern auch zugleich anziehend wirkt. Diese Beobachtungen legen die Vermutung nahe, daß der magnetische Einfluß wahrscheinlich nicht auf einer Hemmung der Plasmaströmung oder der Ablaufsgeschwindigkeit chemischer Reaktionen beruht, sondern daß irgendwelche für die Bildung der jungen Zelle besonders wichtige Moleküle aus ihrer normalen Lage fortbewegt werden, wodurch die Aufbaureaktionen eine vorübergehende Unterbrechung erfahren. Bortels (Berlin-Dahlem).

Ebeling, R., Über den Einfluß von Licht auf die Farbstoffbildung bei Penicillium funiculosum Thom. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 9. 1938. S. 1—19.)

Penicillium funiculosum Thom. bildet im Tageslicht einen orangeroten, im künstlichen Licht einen weinroten Farbstoff; dieser wird bei stärkerer Lichtintensität zu jenem oxydiert. Bei künstlichem Lichtgefälle zeigt sich deutlich die Abhängigkeit der Farbstoffbildung von der Intensität des Lichtes.

Im Dunkeln wird bei der ersten Kultur die Ausbildung des Farbstoffs in ihrem zeitlichen Auftreten etwas, bei Abimpfung davon und weiterer Dunkelkultur immer mehr verzögert, nach der 5. Dunkelpassage ganz eingestellt. In dem Grad der Verzögerung unterscheiden sich die einzelnen Stämme. Blaues Licht wirkt weißem gegenüber nicht verzögernd auf die Farbstoffbildung, zum roten Licht tritt eine immer stärkere zeitliche Verzögerung auf.

Verf. betrachtet den Farbstoff als Schutz gegen zu starkes Licht, insbesondere gegen Strahlen von kurzer Wellenlänge.

Rippel (Göttingen).

Bawden, F. C., und Pirie, N. W., Enzyme, Chromosomen, Virus. (Ztschr. f. angew. Chemie. Bd. 51. 1938. S. 134.)

Bei der Mosaikkrankheit des Tabaks fand man in den infizierten Pflanzen ein spezifisches Protein, das in kristallähnlicher Form vorliegt und mit dem Virus identisch zu sein scheint. Die reinsten Präparate, die aus verschiedenen, mit drei Virusstämmen vom Typ Tabakmosaik und mit Gurkenvirus infizierten Pflanzen erhalten werden konnten, sind Nukleoproteine, deren chemische, physikalische und serologische Eigenschaften ähnlich, aber nicht identisch sind. Im ungereinigten, infektiven Saft liegt wahrscheinlich die Hauptmenge des Virus in Form kleiner, mehr oder weniger kugeliger Teilchen vor, die sich während der Reinigung zu Ketten aneinanderreihen und die Erscheinung der Strömungsdoppelbrechung zeigen. Neutrale Lösungen der untersuchten Viren geben mit Protaminen und Histonen parakristalline Niederschläge, welche die Ursache der Einschlüsse in infizierten Zellen oder der faserigen Niederschläge in alten Präparaten ungereinigter Viren sein können.

Aus Pflanzen, die mit dem Kartoffelvirus „X" infiziert worden waren, wurden ebenfalls spezifische Nukleoproteine isoliert, die aber gegenüber physikalischen und chemischen Behandlungsmethoden viel weniger widerstandsfähig waren als die Nukleoproteine des Tabakmosaik. Heuß (Berlin).

Enzymologie und Bakteriophagie.

Keilin, D., Chemische Struktur und Eigenschaften einiger Fermente (oder Diastasen). (Ztschr. f. angew. Chemie. Bd. 51. 1938. S. 134.)

In bezug auf Struktur, optische Eigenschaften und Reaktionen mit KCN, H_2S, NaN_3, NO und Peroxyden zeigen Peroxydase und Katalase starke Ähnlichkeit. Der Mechanismus ihrer katalytischen Reaktionen kann an der Reaktion mit H_2O_2 verfolgt werden. Die Untersuchung der Fermente ergab, daß die Vereinigung desselben Hämatinkerns oder derselben prosthetischen Gruppe mit drei verschiedenen Proteinen drei verschiedene Verbindungen ergibt: Methämoglobin, Katalase und Peroxydase, die verschiedene Eigenschaften gemeinsam haben, aber doch in der Natur und Größenordnung ihrer katalytischen Aktivität starke Unterschiede aufweisen.

Heuß (Berlin).

Thornberry, H. H., Pectase activity of certain microorganisms. (Phytop. Vol. 28. 1938. p. 202—205.)

Verf. untersuchte auf Pectase-Tätigkeit Phytomonas mori, tabaca, angulata, 1 Bakterium von Tabak, 10 Fusarien von Tabak, 3 Stämme von Sclerotium bataticola, Sclerotinia sclerotiorum, Sclerotinia trifolium, 1 Rhizoctonia von Tabak, 4 Stämme von Thielaviopsis basicola. Außer 2 Fusarien zeigten nur Sclerotium bataticola und 3 Stämme von Thielaviopsis basicola nennenswerte Pectase-Tätigkeit.

Winkelmann (Münster i. W.).

Manteufel, A. Ja. und **Antyschewa, W. Ja.,** Die Wirkung der Temperatur auf die Acetonbutylgärung. (Mikrobiologie. Bd. 6. Folge 7. 1937. S. 903—911.) [Russisch.]

Die Gärungsintensität des Azetonbutyls steigt mit der Erhöhung der Temperatur von 22° auf 40° C, danach vermindert sie sich bedeutend. Mit der Erhöhung der Temperatur (in den oben angegebenen Grenzen) setzt sich die Ausbeute der Lösungsmittel (des Butylalkohols) herab, die des Azetons und Äthylalkohols bleibt aber ziemlich unverändert. Die Temperaturminderung bis auf 30° C erhöht zwar die Ausbeute der Lösungsmittel, verlängert aber die Gärzeit; besonders bemerkbar wird diese Verzögerung bei Temperaturen unter 30° C.

M. Gordienko (Berlin).

Rahn, O., Hegarty, C. P., and **Deuel, R. E.,** Factors influencing the rate of fermentation of Streptococcus lactis. (Journ. Bact. Vol. 35. 1938. p. 547—558.)

Die Intensität der Milchsäuregärung von Streptococcus lactis wurde durch Titration der Säure in gepufferten Glukoselösungen von p_H 7,0 gemessen, in denen die aus dem Nährboden abzentrifugierten Bakterien in großer Dichte aufgeschwemmt wurden. Die zur Untersuchung gelangenden Zellen müssen jung sein und in größerer Konzentration zur Anwendung kommen, als sie bei normalem Wachstum erreicht würde. Der optimale p_H-Wert lag bei 7,0. Beim Ansteigen desselben in den alkalischen Bereich wurde die Gärung weniger beeinträchtigt als beim Absinken in das sauere Gebiet. In einer Pufferlösung mit 4% Phosphat verlief die Säurebildung am schnellsten, mit 6% aber wurde die größte Säuremenge gebildet. So lange den Bakterien mehr als 2% Glukose zur Verfügung standen, hatte die Zuckerkonzentration keinen Einfluß auf den Gärverlauf. Die Bildung der Milchsäure

wurde mehr oder weniger stark gehemmt durch mehr oder weniger große Konzentrationen von Natriumlaktat sowie auch bei anhaltender Durchgasung der Flüssigkeit mit Luft oder Sauerstoff, während umgekehrt bei Verwendung von Stickstoff eine Förderung der Gärung festgestellt wurde. Unterschiede im Alter der Bakterienzellen von 2 Std. bis zu 2 Tagen waren belanglos, wenn die Kulturen häufig übergeimpft wurden. Kamen jedoch alte Kulturen zur Untersuchung, dann verdoppelte sich die Gärungsintensität, sobald die Zellvermehrung einsetzte, und sank wieder auf ein normales Maß, wenn sich die Bakterienzahl verdoppelt hatte. Die zentrifugierten Zellen können in einer Phosphatpufferlösung ohne Glukose bei $+2^0$ C 4 Tage lang aufbewahrt werden, ohne daß ihr Gärvermögen verringert und ihre Lebenskraft wesentlich geschwächt würde. Bortels (Berlin-Dahlem).

Rahn, O., and **Hegarty, C. P.,** Accessory factors in lactic fermentation. (Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. Vol. 38. 1938. p. 218—222.)

Die zentrifugierten und mehrmals gewaschenen Zellen wurden in einer 2 proz. glukosehaltigen Phosphatpufferlösung suspendiert. Als akzessorische Wachstumsstoffe dienten Pepton, Nikotinsäure und Askorbinsäure. Die Säuregradfeststellung erfolgte durch einfache Titration alle 30 Min. Ergebnisse: Die Bildung von Milchsäure durch Strept. lactis-Zellen wird durch die Anwesenheit von Askorbin- oder Nikotinsäure erhöht. Diese beiden Substanzen wirken aber nicht gleichartig. Während die Askorbinsäure fast ausschließlich nur die Milchsäurebildung von erschöpften oder irgendwie geschädigten Zellen stimuliert, tut dies die Nikotinsäure bei allen Zellen in gleicher Weise ohne Rücksicht auf deren physiologischen Zustand. Bei Anwesenheit beider Säuren addiert sich in der Regel ihre Wirkung und erreicht ungefähr den Wirkungsgrad des Peptons. — Cystein und Adenin steigern ihrerseits die Fermentationskraft von Strept. lactis nur, wenn Askorbin- und Nikotinsäure gleichzeitig vorhanden sind.

K. J. Demeter (München-Weihenstephan).

Skinner, C. E., The „tyrosinase reaction" of the Actinomycetes. (Journ. Bact. Vol. 35. 1938. p. 415—424.)

Es wird der Nachweis geführt, daß alle diejenigen Stämme von Actinomyces, die in pepton- oder eiweißhaltigen Nährböden dunkelbraunen bis schwarzen Farbstoff bilden, diese Färbung auch in synthetischen Nährböden hervorrufen, wenn sie Tyrosin enthalten, aber auch nur dann. Hieraus wird der Schluß gezogen, daß die Entstehung dunkel gefärbter Produkte in Kulturen chromogener Actinomyces-Stämme immer auf Tyrosin-Stoffwechsel zurückzuführen ist. Bortels (Berlin-Dahlem).

Pisu, I., Remarques concernant des études récentes sur la nature du bactériophage. [A propos de la production artificielle d'un agent lytique spécifique.] (Soc. Intern. di Microbiol. Boll. della Sez. Ital. Vol. 9. 1937. p. 433—439.)

Nach Jermoljewa und Mitarbeitern sowie nach LeMar und Myers soll es möglich sein, aus abgetöteten Bakterien ein Filtrat zu gewinnen, das für lebende Kulturen der gleichen Bakterienart lytische Eigenschaften besitzt. Daraus ist geschlossen worden, daß der D'Herellesche Bakteriophage kein lebendes Wesen sein könne. Verf. hat nun diese Ver-

suche einer Nachprüfung unterzogen und festgestellt, daß die Filtrate einer durch Erhitzen und nachfolgender Behandlung mit Wasserstoffperoxyd abgetöteten Bakterienkultur für die gleiche Bakterienart zwar eine gewisse lytische Eigenschaft besitzen, daß diese aber wesentlich schwächer ist als die eines echten Bakteriophagen. Während dieser noch in stärksten Verdünnungen wirkt und sich von Kultur zu Kultur unbegrenzt fortzüchten läßt, ist das nicht lebende lytische Prinzip nur in verhältnismäßig sehr großen Konzentrationen wirksam und läßt sich auch nur durch einige wenige Passagen erhalten. Überdies wurden mit ihm nur eine unvollkommene Klärung der Bouillonkulturen und keine „Löcher" in Bakterienausstrichen auf Gelatine erzielt. Verf. möchte deshalb diesen Vorgang als „Bacterioclasie" bezeichnen und somit scharf getrennt wissen von der eigentlichen „Bacteriophagie". Bortels (Berlin-Dahlem).

Mikrobiologie der Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel.

Alejew, B. S. und **Gorkin, I. F.**, Zur Mikrobiologie der Säuerung der Zwiebeln. (Mikrobiologie. Bd. 6. Folge 6. 1937. S. 824—829.) [Russisch.]

Bei der Säuerung der Zwiebeln (Allium cepa L.) entwickeln sich Gärungsprozesse nur sehr langsam, was sich durch langsame Diffusion aus den Zwiebeln der zur Entwicklung der Gärmikroflora nötigen Stoffe sowie durch die Wirkung der in Zwiebeln vorhandenen und die Mikroflora unterdrückenden ätherischen Öle erklären läßt. Dies ist auch die Ursache öfterer Mißerfolge des Zwiebelsäuerns. M. Gordienko (Berlin).

Varga, O., Kisérletek élelmiszereknek ultrarövid elektromos hullámokkal valo konzerválására. [Versuche über die Konservierung von Lebensmitteln mittels ultrakurzer elektrischer Wellen.] (Különlenyomat a „Mezögazdasági Kutatások"-ból. 10. 1937. S. 137—144.)

Bei den mittels elektrischer Wellen von 351—730 cm Länge an Milch, Butter und Erbsen durchgeführten Versuchen konnte in 5 Fällen eine abtötende Wirkung beobachtet werden, in 10 Fällen jedoch waren die Wellen wirkungslos gewesen oder hatten sogar eine Vermehrung der Keime zur Folge. Die bis zu 77% belaufende Keimverminderung in der Milch und Butter war der unmittelbaren Wirkung der Wellen zuzuschreiben. Warum jedoch Wellen von annähernd gleicher Länge in 4 Fällen wirksam, in 2 Fällen dagegen wirkungslos gewesen waren, mag vielleicht darauf beruhen, daß die Wirkung der Strahlen von mehreren Faktoren abhängig ist. Diese sind mit den heute zur Verfügung stehenden Mitteln noch nicht kontrollierbar. Eine keimtötende Wirkung tritt somit nur dann ein, wenn die entsprechenden Faktoren zufällig beieinander sind. Sofern wir künftig vollkommenere technische Einrichtungen besitzen, wäre es nicht ausgeschlossen, daß mit dem angegebenen Verfahren Lebensmittel konserviert werden können, ohne daß chemische oder andere Eigenschaften verändert werden. Eine weitere Voraussetzung für seine Anwendung wäre auch die Wirtschaftlichkeit.

K. J. Demeter (München-Weihenstephan).

Fink, H., Haehn, H. und **Hoerburger, W.**, Über die Versuche zur Fettgewinnung mittels Mikroorganismen mit besonderer Berücksichtigung der Arbeiten des Instituts für Gärungsgewerbe. (Forschungsdienst. Bd. 5. 1938. S. 115—143.)

Die Frage der Fettgewinnung durch Mikroorganismen hat durch die Not des Weltkrieges hohe Bedeutung erlangt und steht neuerdings wieder im Vordergrund des Interesses. Als Hauptlieferant für Fett könnte Endomyces vernalis in Frage kommen, doch ist bis heute die technische Gewinnung von Fett mit Hilfe dieses Pilzes noch nicht geglückt. Lindner beobachtete zwei Stadien in seiner Entwicklung: 1. dasjenige der Eiweißbildung, 2. das der Fettbildung. Nur in der ersten Phase findet Wachstum statt, in der zweiten werden Zucker, ausgenommen Milchzucker und Pentosen zu Fett umgewandelt, wobei keine alkoholische Gärung eintritt. Der Weg des Zuckerabbaus wie der Fettsynthese ist immer noch unklar. Da für die Fettbildung reichliche Sauerstoffzufuhr vonnöten ist, scheiterten auch die beiden einzigen großtechnisch durchgeführten Gewinnungsversuche: das Schalen- und Tennenverfahren. Für die Reingewinnung kommen der HCl-Aufschluß und das Autolyseverfahren in Betracht. Das rötlich-gelbe Öl ist bei Luftabschluß haltbar, in seiner Zusammensetzung (Beurteilung nach Kennzahlen) je nach verwendetem Nährboden sehr stark wechselnd, die Verdaulichkeit soll an die anderer Speisefette heranreichen. Andere Organismen kommen für eine aussichtsreiche Fettgewinnung kaum in Frage, höchstens bestimmte Oidium-lactis-Arten. Skallau (Berlin).

Supinska, J., and **Pijanowski, E.,** Chemical and bacteriological analysis of „Huslanka". (Trav. et Compt. Rend. T. 27. 1937. p. 209—224.) [Poln. m. engl. Zus.]

Das von der Bevölkerung der Ostkarpaten aus Kuh- und Schafmilch hergestellte kefirartige Gärprodukt „Huslanka" wurde chemisch und mikrobiologisch untersucht. Die chemische Untersuchung erstreckte sich auf die Bestimmung von Fett, Eiweiß, anderen Stickstoffverbindungen, Milchzucker, Alkohol, organischen Säuren und Kohlensäure. 3 Stämme von Milchsäurebakterien und 1 Hefestamm wurden isoliert und eingehenden diagnostischen Untersuchungen unterworfen. Der Hefestamm scheint Saccharomyces lactis (Dabrowski) nahezustehen, die Bakterienstämme 1 und 3 Thermobacterium bulgaricum (Orla-Jensen) und 2 Thermobacterium Jugurt (Orla-Jensen). Obwohl Streptokokken mikroskopisch nachgewiesen werden konnten, ließen sie sich doch nicht isolieren. Jedenfalls scheint sich „Huslanka" auch mikrobiologisch nicht wesentlich von Jogurth zu unterscheiden. Wenn sterile Milch mit den obengenannten Organismen zusammen mit Streptococcus lactis beimpft und bei 38—40° C aufbewahrt wurde, dann lieferte sie ein Produkt von der gleichen chemischen und mikrobiologischen Beschaffenheit wie „Huslanka" selbst.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Varga, O., Bacterium coli okozta sajtmérgezés. (Elözetes közlemény.) [Eine durch Bacterium coli verursachte Käsevergiftung.] (Vorl. Mitt.) (Különlenyomat a „Mezögazdasági Kutatások" ból. 10. 1937. S. 175—178.)

Anfangs 1936 erkrankten in Ungarn mehrere hundert Personen an Käsevergiftung (Brechdurchfall). Die Genesung trat innerhalb einiger Tage ein. Es gelang, als Ursache Trappisten-Käse gleicher Herkunft festzustellen. Die bakteriologische Untersuchung ergab, abgesehen von gewöhnlichen Käse-Mikroorganismen und wenigen Paracoli-Bakterien, eine große Anzahl von typischen Colibakterien. Während sich die Paracoli-Keime für die Versuchstiere als unschädlich erwiesen, konnte in den Coli-Bouillonkulturen ein fil-

trierbares, nicht hitzefestes Toxin festgestellt werden, das schon in geringer Menge weiße Mäuse tötete. Diese verendeten innerhalb kurzer Zeit infolge blutiger Dünndarmentzündung. Eigenartigerweise zeigten sich die Colibakterien als solche für die Mäuse nicht pathogen. Da Verf. im Käse auch mastitisähnliche Streptokokken fand, nimmt er an, daß die für die Vergiftung verantwortlichen toxinbildenden Colibakterien mit der Milch kranker Kühe in den Käse gelangt sind. K. J. Demeter (München-Weihenstephan).

Lembke, A., Die Frage der Butterhaltbarkeit im Lichte der Proteasenforschung bei Mikroorganismen. (Forschungsdienst. Bd. 5. 1938. S. 303—307.)

Untersuchungen von Butter nach der Methode von Küßner versagen, da in diesem Fett kein einheitlicher Nährboden vorliegt. Auch die Feststellung der Zahl der insgesamt in Butter vorkommenden Mikroben erlaubt keine sicheren Rückschlüsse auf die Haltbarkeit des Fettes, dagegen schon eher die Verfahren, die mit differenzierten Nährböden arbeiten (Fettplatte, Kaseinagar). Die Verderbnisbereitschaft wird jedoch hierbei nicht erfaßt. Es müßten vielmehr die gebildeten Enzyme ermittelt werden, da diese den Abbau der organischen Substanz in die Wege leiten. Eine Enzymbildung kann von den Mikroben aber nur bei Vorhandensein geeigneter N-Quellen ausgeführt werden. Es ist daher wohl denkbar, daß man die Frage der Verderbnisbereitschaft der Butter beurteilen kann, wenn die in ihr enthaltenen N-Verbindungen durch Bakterienenzyme erfaßt bzw. bestimmt werden. Durch die Tätigkeit der bakteriellen Proteasen bzw. Proteinasen werden Zersetzungsprodukte frei, die mit besonderen Methoden, wie die Sörensensche Formoltitration (Amino- bzw. Carboxylgruppen), von Willstaetter und Waldschmidt-Leitz (Alkohole), von Linderström-Lang (Azetone), von van Slyke gemessen werden können. Somit wäre es möglich, gerade die mikrobielle Zersetzung der Latenzperiode zu erfassen, und danach Maßnahmen zur Verhütung der Fettverderbnis zu treffen, bevor Geschmacksabweichungen auftreten.

Skallau (Berlin).

Rodenkirchen, J., Die Propionsäurebakterien und ihr Vorkommen in Tilsiter Käse. (Milchw. Forsch. Bd. 19. 1937. S. 197—202.)

Verf. hat mit dem von Dorner und Thöni angegebenen Hefeextrakt-Laktat-Agar in hoher Schicht und mit einer zusätzlichen Deckschicht aus 1,5proz. Wasseragar die Propionsäurebakterien in Tilsiterkäse zahlenmäßig erfaßt und dem Gesamtkeimgehalt gegenübergestellt. Dieser wurde sowohl auf Chinablau-Laktose-Agar als auch in Molke mit Hefeautolysat bestimmt. Es wurden in 5 Käsen bei einem mittleren Gesamtkeimgehalt von 250 Mill. (120—520 Mill.) im Mittel 90 600 Propionsäurebakterien (18 500 —330 000) gefunden. Der bedeutungslose Anteil der Propionsäurebakterien an der Gesamtkeimzahl betrug demnach im Mittel 0,04% (0,01—0,28%).

A. Janoschek (Weihenstephan).

Flanzy, M., et de Sèze, René, Action comparée des phosphates et des composés ammoniacaux sur la fermentation des raisins foules. (Revue de viticulture. T. 86. 1937. p. 389 —393.)

Bei Zusatz von phosphorsaurem Ammoniak zur Maische von Trauben geht die Vergärung viel lebhafter vor sich. Dieses Salz übt also offenbar

eine stimulierende Wirkung auf die Hefezellen aus. Es konnte gezeigt werden, daß diese Wirkung aber allein dem Stickstoff zukommt, denn andere Stickstoffverbindungen wirken in ähnlicher Weise, während Phosphorsalze ohne Stickstoffbeigabe, auch wenn erhebliche Gaben zugefügt werden, diese stimulierende Eigenschaft nicht besitzen. Die Versuche wurden mit gesunder Traubenmaische, normaler Reife und bei normaler Gärtemperatur ausgeführt.

K. Müller (Freiburg i. Br.).

Schnegg, H. und Weigand, K., Beiträge zur Kenntnis der Thermobakterien und Essigbakterien. (Ztschr. f. d. ges. Brauereiwesen. Bd. 61. 1938. S. 1—7, 9—13.)

Bei biologischen Würze- und Wasseranalysen wurde wiederholt festgestellt, daß der zur Unterdrückung der Thermobakterien empfohlene Alkoholzusatz seinen Zweck nicht oder nur unvollkommen erreicht. Es wurden zur Klärung der Verhältnisse verschiedene Stämme von Thermobakterien in Würzekulturen auf ihre Alkoholempfindlichkeit untersucht.

Sie zeigten erwartungsgemäß eine verschieden große Widerstandsfähigkeit gegen Alkohol. Meistens bewirkte ein Gehalt von mehr als 3% Alkohol in der Nährlösung schon eine Verzögerung in der Entwicklung. Ein Stamm konnte sich noch bei 8% Alkohol vermehren. Nach einer Einwirkungszeit von 15 Min. begann bei allen Alkoholkonzentrationen bereits ein Absinken der Keimzahlen. Diese Schädigung war aber nur vorübergehend, eine dauernde Schädigung wurde erst bei einem Alkoholgehalt von über 4% ersichtlich. Die durchschnittliche Schädlichkeitsgrenze liegt bei einem Alkoholgehalt von etwa 5%, bei dem die Termobakterien schon nach kurzer Einwirkung ihre typische Gestalt und ihr Schwärmvermögen verlieren. Bei Alkoholgehalten, wie sie im Bier vorkommen, können sie sich noch längere Zeit am Leben erhalten, ohne sich zu vermehren. An einem aus Reinzuchtbier isolierten Stamm wurde festgestellt, daß mit der Zeit eine gewisse Anpassung der Termobakterien an die Verhältnisse des Bieres stattfindet, die eine größere Widerstandsfähigkeit zur Folge hat. Eine Weiterentwicklung erfolgt auch bei diesen Stämmen in Bier von normalem Stammwürzegehalt nicht. In Würzen geringerer Konzentration werden jedoch die Termobakterien durch den während der Gärung gebildeten Alkohol nicht ausgeschaltet. In solchem Fall kann es, wie die Verhältnisse der Dünnbiere gezeigt haben, zu einer Weiterentwicklung der Bakterien und zu Bakterientrübungen kommen. Eine Alkoholassimilation durch die Bakterien findet nicht statt. Das p_H sinkt in den Kulturen durchschnittlich um 0,5 ab, wodurch sich die Termobakterien als schwache Säurebildner erweisen.

Bei biologischen Bieranalysen wurden häufig, besonders in Einschlußpräparaten, also unter anaeroben Verhältnissen, Bakterien gefunden, die morphologisch und biologisch den in Reinzuchtbieren gelegentlich gefundenen Thermobakterien ähnlich waren. Nach dem Ergebnis eingehender Untersuchungen sind diese Bakterien, obwohl sie sich auch in Würze ohne Alkoholzusatz gut entwickeln, keine Thermobakterien und nicht identisch mit den gelegentlich in Reinzuchtbieren gefundenen Thermobakterien. Im Gegensatz zu den Thermobakterien zeigen die verschiedenen aus Bieren isolierten Bakterienstämme ein ziemlich bedeutendes Säurebildungsvermögen.

Die aktive Säure drückt sich aus in p_H-Werten, die bei den einzelnen Stämmen innerhalb von 5 Tagen von 5,88 auf 3,15—4,92 heruntergegangen sind, wobei die lebhafter sich entwickelnden Stämme ein stärkeres Säurebildungsvermögen zeigten. Die Titrationsazidität, ausgedrückt in ccm n/10 NaOH für 10 ccm Kulturflüssigkeit, erreichte innerhalb von 12 Tagen bei 8 isolierten Stämmen, die sich sehr ähnlich waren, Werte zwischen 13,2—46,2, bei zwei anderen Stämmen, die von den anderen biologisch und physiologisch etwas verschieden waren, Werte zwischen 62,8—63,3. Auch diese Bakterien zeigen wie die Termobakterien eine gewisse Alkoholempfindlichkeit insofern, als das Säuerungsvermögen mit steigendem Alkoholgehalt abnimmt. Damit im Zusammenhang steht auch ein geringerer Alkoholverbrauch bei den höheren Alkoholkonzentrationen der Nährflüssigkeit.

In den unter anaeroben oder fast anaeroben Verhältnissen im Bier vor-

kommenden Bakterien handelt es sich also um echte, fakultativ aerobe Essigbakterien, die zur Gruppe des Bacterium industrium gehören.
Heuß (Berlin).

Cunningham, A., and Smith, A. M., The characteristics of lactobacilli isolated from samples of A.I.V. silage. (Ann. Soc. of Agric. Bacteriologists. Edinburgh 1937.)

Aus verschiedenen Proben von A.I.V.-Silage wurden 200 Stämme von Laktobazillen isoliert. Ein Teil derselben entsprach L. plantarum, doch fehlte den meisten Stämmen das Reduktionsvermögen für Nitrate. Eine zweite Gruppe entsprach einer unbeweglichen Form von L. pentoaceticus und die dritte Gruppe stand L. plantarum nahe, doch fehlte das Vermögen, Maltose zu vergären. Auf das Wachstum aller Stämme wirkte Hefeautolysat fördernd. Peptischer Casein-Auszug war als Nährboden wenig geeignet. Besseres Wachstum war auf Nährbouillon, Difco-Hefeextrakt und Trypton enthaltenden Nährböden festzustellen. Katalase konnte bei keinem der Stämme nachgewiesen werden.
A. Janoschek (Weihenstephan).

Mikrobiologie des Düngers, Bodens, Wassers und Abwassers.

Fehér, D., Einige Bemerkungen zu meinen Arbeiten über die regionale Verbreitung der Bodenalgen. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 9. 1938. S. 20—22.)

Verf. stellt einen Einwand v. Schelhorns richtig, wonach er bei seinen Arbeiten über die regionale Verbreitung der Bodenalgen K_2HPO_4 verwendet habe anstatt KH_2PO_4; tatsächlich wurde das saure Salz verwendet: durch ein Versehen geriet die Angabe des alklalischen Salzes in die deutschen Arbeiten des Verf.s. Dieser macht noch darauf aufmerksam, daß für die Ökologie nicht ein Faktor allein entscheidend ist, wie etwa p_H-Wert, sondern das Zusammenwirken aller Biofaktoren. Rippel (Göttingen).

Lineweaver, H., Physical characteristics of cells of Azotobacter, Rhizobium, and Saccharomyces. (Journ. Bact. Vol. 35. 1938. p. 501—509.)

An drei Arten von Azotobakter, Rhizobium meliloti und einer Hefe wurde untersucht, welche Beziehungen zwischen Trockengewicht, Zellvolumen und Zellenzahl je Kubikzentimeter bestehen. Dichte und Wassergehalt betrugen für Azotobacter vinelandii 1,09 bzw. 0,84, für Azotobacter chroococcum 1,04 bzw. 0,87, für Azotobacter beijerinckii 1,04 bzw. 0,88, für Rhizobium meliloti 1,10 bzw. 0,75 und für Saccharomyces 1,075 bzw. 0,85 g je ccm Zellmaterial. Bortels (Berlin-Dahlem).

Niethammer, A., Wachstumsversuche mit mikroskopischen Bodenpilzen. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 9. 1938. S. 23—30.)

Die Bodenpilze Acaulium nigrum, Cladosporium herbarum, Dematium pullulans, Fusarium oxysporum, Penicillium expansum, italicum, luteum, notatum, Trichoderma Koningi werden in ihrem Verhalten Metallen gegenüber (Eisen, Nickel, Zink) untersucht, wobei sich Förderung bestimmter Art durch geringe Mengen ergab.

Die genannten Pilze verhalten sich zu Keimlingen höherer Pflanzen verschieden. Während z. B. Dematium und Trichoderma durch Weizen nicht beeinflußt werden, wird Pen. expansum von den Wurzeln abgelehnt. Ältere Keimlinge hemmen den Pilz stärker als jüngere. Auch untereinander besitzen die Pilze einen verschieden stark ausgeprägten Antagonismus. Rippel (Göttingen).

Henrici, A. T., Studies of freshwater bacteria. IV. Seasonal fluctuations of lake bacteria in relation to plancton production. (Journ. Bact. Vol. 35. 1938. p. 129—139.)

Im Wasser eines seichten, ungeschichteten Sees wurden während eines trockenen Jahres, in welchem er keinen oberflächlichen Zufluß erhielt, gleichzeitig das Netzplankton und die Bakterien zu verschiedenen Jahreszeiten gezählt. Die Zählung der Bakterien erfolgte sowohl mikroskopisch (periphytische Arten) als auch nach der Plattenmethode. Auf diese Weise wurde festgestellt, daß die als Funktion der Zeit aufgetragenen Zahlenwerte für die jeweils ermittelten Planktonmengen sowie die Anzahl der im Wasser befindlichen und der periphytischen Bakterien gleichartige Kurven ergeben, die nur zeitlich etwas gegeneinander verschoben sind. Der Abstand der Planktonkurve von derjenigen der frei im Wasser befindlichen Bakterien ist etwas größer als der Zeitraum zwischen den entsprechenden Kurvenwerten des Planktons und der periphytischen Bakterien. Die vom Plankton gebildete organische Substanz scheint also für die Vermehrung der Bakterien von hervorragender Bedeutung zu sein. Bortels (Berlin-Dahlem).

Rubentschik, L. I. und Geichermann, D. G., Zur Mikrobiologie der Schlammseen: die Untersuchungsergebnisse des Schlammsees Golopristanskoje. (Mikrobiologie. Bd. 6. Folge 7. 1937. S. 916—925.) [Russisch.]

Die mikrobiologische Untersuchung des Schlammes aus dem See Golopristanskoje (am Unterlauf des Dnjeprs), der sich durch einen hohen Gehalt an CO_3'', HCO_3'- und geringen Gehalt an SO_4'-Ionen kennzeichnet, ergab folgende Resultate: die Mikrobenmenge stellte sich bei mikroskopischer Untersuchung auf 925—1330 Millionen/l gr Schlamm und setzte sich qualitativ wie folgt zusammen: Sulfat-reduzierende Mikroben 100 000—1 000 000, Thiosulfat-reduzierende 10 000—100 000, ammonifizierende 10 000—100 000, nitrifizierende 100—1000, aerobe Zellulosebakterien 100—1000, anaerobe Zellulosebakterien 10—100. Alle Mikroben zeigten hohe potentielle Aktivität. Die graue Farbe des Seewassers wird durch geringen H_2S-Gehalt sowie durch manche andere Faktoren bedingt.

M. Gordienko (Berlin).

Mikrobiologie von Holz usw.

Schulze, Röntgen-Interferenz-Untersuchung gesunder und pilzbefallener einheimischer Holzarten. (Chemiker-Zeitg. Bd. 62. 1938. S. 90.)

Bei der Einwirkung von Coniophora cerebella, Poria vaporaria und Merulius lacrimans domesticus machte sich eine Einwirkungsdauer von einem Monat im Röntgenbild noch nicht bemerkbar, nach drei Monaten beobachtete man eine Schwächung sämtlicher Interferenzen, die sich nach einer Angriffszeit von 6 Monaten noch

stärker auswirkte. Die Veränderungen des Fichtendiagramms durch den Angriff dieser Pilze sind nach 3 Monaten schon sehr deutlich, nach 6 Monaten besonders stark, in einem Fall führte sie zum vollständigen Verschwinden des Zellulosediagramms. Es wird offenbar nur die Zellulose abgebaut, ohne daß die Ordnung des mizellaren Aufbaues als solche zerstört wird. Bei Trametes pini wurde auch nach einer Einwirkungszeit von 6 Monaten noch keine Änderung des Röntgenbildes sichtbar, was damit im Einklang steht, daß dieser Pilz zunächst Lignin abbaut, das keine Röntgen-Interferenzen liefert. Heuß (Berlin).

Liese, Beurteilung neuerer Fäulnisschutzmittel. (Chemiker-Zeitg. Bd. 62. 1938. S. 90.)

Eine Anzahl neuerer Schwammschutzmittel wurden in den letzten Jahren nach der Klötzchenmethode auf ihre pilzwidrige Wirkung untersucht, herangezogen wurden dazu Merulius domesticus, Lenzites abietina und Coniophora cerebella. Für jedes Mittel wurde die Minimalmenge, ausgedrückt in kg/cbm Holz, bestimmt, bei der ein Angriff des Pilzes nicht mehr erfolgte. Die für ein Präparat bei den drei Versuchspilzen sich ergebende höchste Minimalmenge wurde fur die allgemeine Beurteilung zugrunde gelegt, aus diesen Werten läßt sich die zum Schutze des Holzes notwendige Konzentration jedes Mittels errechnen und seine Wirtschaftlichkeit prüfen. Schwer auslaugbare Schutzmittel für Hölzer, die im Freien verbaut werden, stellen neben dem bewährten Steinkohlenteeröl die sog. „U-Salze" dar. Die behandelten Hölzer müssen aber einem langsamen Austrocknungsprozeß unterzogen werden, damit sich in ihnen die schwerlöslichen Doppelsalze bilden. Werden sie sofort ins Erdreich verbracht, dann geht ein erheblicher Teil des Schutzstoffes sofort verloren.

Heuß (Berlin).

Hase, A., Zerstörungen von Papierwaren durch Silberfischchen (Lepismatiden) und deren Bekämpfung. (Anz. Schädlingskunde. Jahrg. 14. 1938. S. 37—42.)

Die Silberfischchen bevorzugen Nahrungsstoffe pflanzlicher Herkunft, verschmähen aber auch Stoffe tierischen Ursprungs keineswegs, so daß kaum übersehbare Schadmöglichkeiten gegeben sind. Vor allem wird auf den in Geldwert nicht ausdrückbaren Schaden an wertvollen Papieren und Akten an Hand drastischer Beispiele hingewiesen. Bevorzugt werden gerade die besseren, holzfreien Papiere. Unterschieden wird Schab- und Lochfraß. Die verschiedene Möglichkeit des Schadfraßes und ihre praktische Auswertung wird erörtert. Ferner werden die Eier und der Vorgang der Eiablage beschrieben und der Kot der Silberfischchen in einer Abbildung dargestellt. Ein besonderer Abschnitt behandelt die Bekämpfung. Von Wirkung sind Reinigungsarbeiten, ferner Ködermittel, z. B. Mischungen von Kieselfluornatrium mit Zucker oder von Arsenpräparaten mit Honig und Sirup. Außerdem werden empfohlen Raumdurchgasung mit T-Gas oder Zyklon und Ausspritzen mit Grodyl. Auf neue Möglichkeiten der Bekämpfung, die noch nicht erprobt sind, wird hingewiesen.

Karl Gößwald (Berlin-Dahlem).

Waksman, S. A., and Cordon, T. C., A method for studying decomposition of isolated lignin, and the influence of lignin on cellulose decomposition. (Soil Science. Vol. 45. No. 3. 1938. p. 199—206.)

Um den Einfluß des Lignins auf den mikrobiellen Abbau der Zellulose zu untersuchen, imprägnierten Verff. Filtrierpapier mit Lignin aus alkoholischer Lösung. Dieses Lignin wurde von verschiedenen Pilzen in einem gewissen Ausmaße zersetzt, jedoch bedeutend langsamer als die Zellulose. Der Zelluloseabbau wurde durch die Imprägnierung mit Lignin nicht beeinflußt. In natürlichem Pflanzenmaterial, spez. Holz, hemmt Lignin den Zelluloseabbau jedoch stark. Diese Hemmung ist schon bei einem Ligningehalt von 8% deutlich. Sie wird erst bei 1,5% unwesentlich. Nach Herauslösen des Lignins steigt die Intensität der Zellulosezersetzung an. Die hemmende Wirkung kann nach den vorliegenden Versuchen also nicht dem Lignin als solchem zugeschrieben werden. Sie muß vielmehr durch die Art der Bindung von Zellulose und Lignin, sei sie physikalisch oder chemisch, verursacht werden. C. R. Baier (Kiel-Kitzeberg).

Kalnins, A., Biochemical and microfloral changes involved in the flax retting process. (Acta. Universitatis Latviensis. Serija III. Vol. 6. 1937. p. 435—486.) [Lettisch m. engl. Zus.]

Im Verlauf chemischer und biologischer Untersuchungen über die Flachsröste wurde festgestellt, daß zuerst die wasserlöslichen Stoffe durch verschiedenste Bakterien abgebaut werden und erst dann im eigentlichen Rotteprozeß das Pektin angegriffen und zerstört wird. Dabei sinkt der p_H-Wert von 7,0 auf 4,5. Ein weiteres Absinken findet nicht statt, weil bei der Verrottung auch reichlich Basen frei werden, die neutralisierend wirken. Es wurden titrimetrisch Mengen der auf diese Weise in Lösung geschickten Basen ermittelt, die 2,4 ccm Normalalkali je 1 g zersetzten Pektins entsprechen. Gegen Ende des technisch richtig durchgeführten Röstvorganges hört die Bildung von Säure und das Freiwerden von Basen (Ca, Mg) auf. Die Mikrobenzahl auf und im Stroh zeigt 2 Maxima, von denen das erste am Anfang des Röstvorganges liegt, zu welcher Zeit auch das Wasser die meisten Bakterien enthält, und das zweite beim Einsetzen der Pektinzerstörung. In der ersten Phase des Gesamtvorganges herrschen 5—6 Bakterien vor, unter denen sich Gas- und Säurebildner befinden. Mit Beginn der Hauptphase, der Pektinzersetzung, verschwinden diese fast alle und machen säurebildenden Streptokokken und Stäbchen Platz. Gleichzeitig steigt die Zahl der anaeroben Pektinzersetzer (Bac. amylobacter) stark an. Aerobe Pektinzersetzer wurden nur zu Beginn der Röste, an den ersten beiden Tagen in geringer Zahl angetroffen. Von allen reingezüchteten und untersuchten Bakterien erwiesen sich nur Bac. amylobacter sowie die Stämme Aer und S 27 als nützlich für den Röstvorgang. Andere übten teilweise einen deutlich hemmenden Einfluß aus. Bac. amylobacter wurde in seiner pektinlösenden Tätigkeit durch die Gegenwart der Stämme S 27 oder U III oder von Schizosaccharomyces Pombe gefördert. Es wird aus den Versuchen mit sterilisiertem Flachsstroh und Reinkulturen von Bac. amylobacter geschlossen, daß die der Pektinzersetzung voraufgehende Zerstörung der wasserlöslichen organischen Substanzen für den eigentlichen durch Bac. amylobacter getätigten Röstvorgang nicht erforderlich ist.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Baier, C. R., Bakteriologische Erdölstudien. (Kieler Meeresforsch. Bd. 2. 1937. S. 149—156.)

Es wurden 3 Erdölproben und 2 Bohrkerne aus dem hannoverschen Erdölgebiet untersucht. In keiner der Proben wurden kulturell oder mikro-

skopisch Bakterien nachgewiesen. An Hand eigener Untersuchungen und von Literaturangaben wurde eine toxische Wirkung niedrig siedender Paraffine gegenüber Bakterien festgestellt. Aus den Ergebnissen der Untersuchungen wurde geschlossen, daß eine bakterielle Umbildung des Erdöls im Innern der Lagerstätten nicht möglich ist. Eine solche kann nur an der Grenzfläche zwischen Erdöl und Ölwasser stattfinden und unter Ausnutzung anorganisch gebundenen Sauerstoffs zur Bildung von Oxybitumenen und von Erdgasen führen. Autorreferat.

Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz im allgemeinen.

Wilcoxon, Fr., and **McCallan, S. E. A.,** The weathering of Bordeaux mixture. (Contrib. Boyce Thomps. Inst. Vol. 9. 1938. S. 149—160.)

In früheren Arbeiten war gezeigt worden, daß durch Exkretionen keimender Pilzsporen das Kupfer des Bordeauxgemisches in Lösung gebracht werden kann. Diese Tatsache hat zu der Hypothese Anlaß gegeben, daß die Exkretionen solcher Organismen für die fungizide Wirkung des Gemisches verantwortlich zu machen sind, nicht so sehr Exkretionen der Blätter der Wirtspflanzen oder das Wasser der Atmosphärilien. Wie die Feldversuche der Verff. jedoch ergaben, führte die auslaugende Wirkung von Regenfällen und Tau zu einer Anreicherung an löslichem Cu im Gemisch. Dies aber auch nur, wenn die Kupferkalkbrühe in Form eines getrockneten Filmes vorlag. Hohe Kalkgehalte verzögerten die Überführung des Cu in lösliche Formen, die Karbonatbildung des überschüssigen Kalkes ist mit der Überführung in lösliches Cu nicht in Zusammenhang zu bringen. Somit ist das Auftreten von löslichem Cu im Bordeauxgemisch ein maßgeblicher, selbständiger Faktor, der die lösenden Wirkungen der pilzlichen Exkrete erheblich unterstützt. Skallau (Berlin).

McCallan, S. E. A., and **Wilcoxon, Fr.,** Laboratory comparisons of copper fungicides. (Contrib. Boyce Thomps. Inst. Vol. 9. 1938. p. 249—264.)

Über den Ersatz der Kupferkalkbrühe durch andere, gleichwertig fungizide Cu-Salze, die jedoch nicht die unerwünschten Pflanzenschädigungen verursachen, leichter herstellbar und billiger sind, ist schon viel gearbeitet worden. Auch der vorliegende Bericht befaßt sich mit solchem Ersatz. Sporen von Sclerotinia fructicola, Botrytis paeoniae, Alternaria solani, Glomerella cingulata, Uromyces caryophyllinus, Gymnoconia peckiana dienten als Testobjekte, an Cu-Salzen wurden 9 Präparate verschiedener Herstellerfirmen verwandt: Oxo Bordeaux mit 13, Copposil 17,2, Cu-Oxychlorid 22,9, Cu-Hydro „40" 26,8, Cu-Zeolith 28,9, Cu-Oxalat 39,5, Cu-Phosphat 45,4, bas. $CuSO_4$ 52, ein Cuprooxyd mit 88,2% Cu. Wie die Labor-, Gewächshaus und Freilandversuche ergaben, erwies sich Kupferkalkbrühe allen angewandten Verbindungen erheblich überlegen. Das Phosphat und besonders Sulfat wirkten nur wenig giftig, die übrigen Verbindungen nahmen eine Mittelstellung ein. Das Verhältnis der Giftwirkungen der Kupferkalkbrühe zu denjenigen der schwächsten Gruppe war 180—1800 : 1, der Mittelgruppe 4—20 : 1. Eine Ausnahme machte Gymnoconia peckiana. Die Rangordnung in der giftigen Wirkung auf Pfirsich, Apfel, Salat, Buchweizen, Mais, Buschbohne war die gleiche, jedoch waren die quantitativen Unter-

schiede bei den Freilandversuchen geringer. Hier allerdings waren die Schäden durch die Verbindungen der Mittelgruppe denjenigen der Kupferkalkbrühe oftmals gleich oder übertrafen sie sogar. Die Arbeiten der Verff. zeigen, daß die Kupferkalkbrühe bis heute noch nicht zu ersetzen ist.

Skallau (Berlin).

Marsais, P., et Ségal, L., Contribution à l'étude de l'action anticryptogamique du cuivre. (Revue de viticulture. T. 88. 1938. p. 285—287, 305—311, 325—327.)

Kupferhaltige Verbindungen zur Bekämpfung von Schädlingen sind nun bald ein Jahrhundert in Anwendung. Die pilztötende Eigenschaft kommt außer dem Kupfer nur noch wenigen Metallen zu, diesen aber in weit geringerem Ausmaße. Bei Kupfer ist dagegen die Wirkung spezifisch überaus stark. Dabei spielen eine ganze Reihe von Faktoren eine große Rolle, wie z. B. die physikalisch-chemische Natur des Bekämpfungsmittels, die Widerstandsfähigkeit oder Empfänglichkeit der Kulturpflanze u. a.

Damit die Bespritzung der Reben mit Kupferbrühen gegen den Peronosporapilz wirkt, muß jeder Spritzfleck zumindest so viel Kupfer enthalten, daß ein Regen- oder Tautropfen daraus 1 Millionstel seines Gewichts an Cu lösen kann, dann ist der Wassertropfen für die Peronosporakonidien tödlich. Die Giftigkeit wechselt mit der Zahl der Konidien. Eine Kupferkalkbrühe muß eine höhere Giftmenge enthalten, wenn sie längere Zeit wirken soll, da jeder Regen einen Teil des Kupfers herauswäscht. Die Verff. geben dann noch verschiedene Theorien über die Wirkung der Kupferbrühe an, auch eine elektrische Strahlungstheorie und weisen auf die stimulierende Wirkung des Kupfers auf die Wirtspflanze hin, um dann ein Programm solcher Fragen zusammenzustellen, die für die Praxis dringend einer Klärung bedürfen. Dabei muß aber gesagt werden, daß manche von den Untersuchungen, die die Verff. verlangen, schon durchgeführt und die betreffenden Fragen eigentlich geklärt sind.

K. Müller (Freiburg i. Br.).

Gersdorff, W. A., and Claborn, H. V., The Toxicity of Phenothiazine and some of its Oxidation Products, in Experiments with Carassius auratus. (Journ. Agric. Res. Vol. 56. 1938. p. 277—282.)

An Goldfischen von 5—7 g Gewicht wurden bei 27° C unter Berücksichtigung der Absterbezeit und der Konzentration des Mittels die Giftigkeit von Phenothiazin, schwefelsaurem Phenothiazin, Phenothiazon und Thionol festgestellt und die Ergebnisse mit Rotenon verglichen.

Phenothiazon löste sich in der entsprechenden Konzentration leicht in Wasser, die anderen, schwefligen Verbindungen dagegen schlecht. — Phenothiazon war unter Berücksichtigung der obenerwähnten Bedingungen ein Zehntel so giftig wie Rotenon, aber selbst 10mal so giftig wie Phenothiazin. Die beiden anderen Substanzen, das schwefelsaure Phenothiazin und Thionol waren nicht wahrnehmbar giftig gegen die Goldfische.

Kontrollsuspensionen von schwefelsaurem Phenothiazin wurden wahrnehmbar giftig, nachdem sie der Luft einige Tage ausgesetzt waren und eine rötliche Färbung angenommen hatten, ähnlich der Lösung von Phenothiazon. Kontrollsuspensionen von Phenothiazin erfuhren eine ähnliche, aber schwächere Veränderung.

Es scheint, daß die Giftigkeit von Phenothiazin für den Goldfisch auf Oxydation beruht.

Karl Gößwald (Berlin-Dahlem).

Wilmot, R. J., and **Gautier, T. N.**, A portable Instrument for the Analysis of Hydrocyanic Acid Gas-Air Mixtures. (Journ. Agric. Res. Vol. 56. 1938. p. 283—290.)

Ein tragbarer Blausäure-Bestimmungsapparat wird beschrieben. Genauigkeit der Bestimmung ± 0,02 Vol.-% HCN.

Karl Gößwald (Berlin-Dahlem).

Schädigungen der Pflanzen durch Pilze, Bakterien und filtrierbare Vira.

Broekhuizen, S., Ziekten en Plagen van de Champignoncultuur. [Krankheiten und Schäden der Edelpilzzucht.] (T. o. Pl. H. 3. 1938. S. 113—134, m. 17 Abb.)

Die Ausbreitung der Edelpilzzucht in Holland zieht eine Zunahme der Krankheiten und Plagen nach sich, deren Bekämpfung für die Rentabilität der Betriebe von größter Wichtigkeit ist. Es ist daher sehr zu begrüßen, wenn Verf. eine Zusammenstellung der daselbst vorkommenden oder möglicherweise noch anzutreffenden tierischen und pflanzlichen Feinde gibt, wie sie in den in- und ausländischen, sehr verbreiteten Fachblättern beschrieben worden sind.

Von den uns hier interessierenden pilzlichen Feinden seien u. a. genannt: Cephalosporium Costantini Smith, Cephalosporium lamellaecola Smith, Dactylium dendroides (Bull.) Fr., Fusarium spp., Myceliophthora lutea Cost. (Grünspankrankheit), Mycogone perniciosa (Magn.) Cost. et Duf. (Weichfäule), Verticillium Malthousei Ware, Oospora (Monilia) fimicola (Cost. et Matr.) Cub. et Megl. (Gipskrankheit) u. a. m. Es folgt noch eine kurze Beschreibung einiger Basidiomyzeten, wie sie mitunter auf dem Dünger oder der Deckerde angetroffen werden.

Für jede Krankheit wird die Art der Bekämpfung, zum Teil auf eigenen Erfahrungen des Verf.s beruhend, mit angegeben. Eine englische Zusammenfassung sowie ein ausführlicher Schrifttumnachweis beschließen diese für den Züchter ohne Zweifel nützliche Arbeit.

van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Chaudhuri, H., Kapur, V. S., Bhatia, K. L., and **Anand, J. S.**, Diseases of the tea bush in the Kangra valley, Punjab. I. (Indian Journ. of Agric. sc. Vol. 7, 4. 1937. p. 565—573.)

Verff. haben verschiedene Krankheiten des Teestrauches in den Plantagen von Palampur (Kangra) untersucht, und es gelang, eine große Anzahl Erreger zu isolieren und ihre Pathogenität durch Impf- und Kulturversuche zu überprüfen. Zwei Tafeln schildern die Symptome am Teeblatt und die Morphologie der betreffenden Erreger. Folgende Mikroorganismen sind beschrieben: Botryodiplodia theobromae, Cephaleuros mycoidea, Colletotrichum camelliae, Guignardia camelliae, Hendersonia theicola, Pestalozzia theae und Phoma theicola.

Bärner (Berlin-Dahlem).

Vloten, H. van, Een ziekte van den Douglasspar (waarschijnlijk), veroorzaakt door Phaeocryptopus Gäumanni (Rohde) Pet. (Adelopus Gäumanni Rohde). [Eine Krankheit der Douglasien, (wahrscheinlich) verursacht durch Phaeocryptopus Gäumanni (Rohde) Pet.] (Nederl. Boschbouw Tijdschr. No. 5. 1938. S. 196—204.)

Verf. studierte eine in den letzten Jahren in Deutschland auftretende Krankheit der Douglasien, Pseudotsuga Douglasii Carr. und Pseudotsuga glauca Mayr., welche sich durch Nadelfall im ersten bis dritten Jahre äußert. Die Krankheit fängt an mit einer Verfärbung der Nadeln; anfangs graugrün, wird sie später graubraun. Auffälliger ist das Lichterwerden der Baumkronen. Auf den lebenden Nadeln entstehen die Fruchtkörper des Pilzes, welche das ganze Jahr hindurch gefunden werden. Der Pilz ist nicht identisch mit Phaeocryptopus nudus (Peck) Pet., der in den Vereinigten Staaten und auch in Europa saprophytisch auf abgestorbenen Nadeln von Abies-Arten vorkommt. Die befallenen und dadurch geschwächten Bäume werden öfters von Armillaria mellea vollends abgetötet. Die Krankheit tritt in Süddeutschland und der Schweiz verheerend auf, in England und Irland jedoch ist der Schaden gering. Da das holländische Klima mehr dem englischen als dem schweizerischen gleichkommt, ist zu erwarten, daß auch in Holland die Krankheit keinen großen Schaden verursachen wird, doch ist immerhin dauernde Aufmerksamkeit geboten. van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Hey, A., Wieder sichere Serradella-Erträge. (Deutsche Ldw. Presse. Jahrg. 65. 1938. S. 189 u. 203, 6 Abb.)

Verf. weist zunächst darauf hin, daß dem Anbau der Serradella die größte Gefahr droht. Der Stengelbrenner Colletotrichum trifolii hat sich nämlich in den letzten Jahren außerordentlich schnell verbreitet. Es hat sich aber gezeigt, daß Aussaaten nach dem 1. Juni durch die Krankheit nicht mehr in nennenswertem Umfang geschädigt werden. Man hat daher durch die späte Aussaat im Futter-Serradella-Anbau eine Möglichkeit, der Krankheit zu begegnen. Bei Anbau von Samen-Serradella müssen andere Wege beschritten werden. Durch Beizung des Saatgutes muß eine Verschleppung der Krankheit verhindert werden. Die Maßnahme hat aber dort keinen Erfolg, wo die Ansteckung vom Boden aus erfolgt. Es muß deshalb verlangt werden, daß dort, wo in diesem Jahre Samen-Serradella gebaut werden soll, mindestens in den letzten beiden Jahren Serradella weder in Futter- noch in Samennutzung gestanden hat und daß andere Serradellaflächen wenigstens 500 m entfernt liegen. Dort, wo aus klimatischen Gründen Spätaussaaten nicht in Frage kommen, empfiehlt Verf. den Ersatz der Serradella durch eine Kleeart. Winkelmann (Münster i. W.).

Uppal, B. N., and Kulkarni, N. T., Studies in Fusarium wilt of sann-hemp. I. The physiology and biology of Fusarium vasinfectum. (Indian Journ. of Agric. sc. Vol. 7, 3. 1937. p. 413—442.)

Eine Sämlingswelke an Crotalaria juncea L. aus den Gegenden von Bombay und Dekkan wurde als eine Fusarium-Welke erkannt und der Erreger als ein Stamm von Fusarium vasinfectum Atk. bestimmt. Es werden ausführlich die Faktoren, die eine günstige Ausbreitung der Krankheit bewirken, geschildert. Die optimale Wachstumstemperatur liegt für den Pilz bei 25—30° C. Im Laufe seiner Entwicklung vermag der Organismus eine Reihe von eiweißabbauenden Enzymen neben Produkten mit toxischen Eigenschaften zu bilden. Die Krankheit wird durch den Samen übertragen und ist nicht auf Crotalaria juncea L. beschränkt, sondern ließ sich auf C. anagyroides, C. striata und C. usara-

moensis übertragen. Infektionsversuche mit Gossypium herbaceum und Cajanus indicus verliefen dagegen negativ.

Bärner (Berlin-Dahlem).

Colson, B., The Cytology and Development of Phyllactinia corylea Lev. (Ann. Bot. N. S. Vol. 2. 1938. p. 381—402.)

Verf. isolierte den Schadpilz von Corylus avellana im südlichen England und untersuchte die Fruchtbildung eingehend, daneben die Kernverhältnisse bei der Ausbildung der Asci. Die jugendlichen Sexualhyphen unterscheiden sich vom übrigen vegetativen Myzel durch ihr zunächst aufrechtes Wachstum, ein Paar solcher Hyphen umschlingt sich und leitet damit die Bildung des Peritheziums ein. Verf. gibt eine eingehende Schilderung dieses Vorganges, die von der anderer Autoren etwas abweicht. Antheridium und Oogon werden vor der Scheidenbildung durch eine Querwand vom Myzel getrennt. Ein Übertritt des Antheridienkernes in das einkernige Oogon wurde nie beobachtet, auch keine Auflösung von Zellwänden, so daß also Apogamie vorliegt. Während die Antheridienkerne degenerieren, wächst das Oogon weiter unter Bildung von 4 Kernen, von denen 2 in einer Zelle zusammenzuliegen kommen. Diese Mittelzelle ist der Ausgangspunkt für die Entstehung der askogenen Hyphen, die zunächst vielkernig und nicht septiert sind. Die Septierung erfolgt dann so, daß die end- und grundständige Zelle einkernig, die dazwischenliegenden Zellen zweikernig werden. Aus diesen gehen dann die Asci hervor, deren Kerne verschmelzen, danach setzt die Reduktionsteilung ein. Trotzdem 6 Kerne in jedem Askus gefunden werden, sind doch nur zwei der Ausgangspunkt für eine Sporenbildung, die Spore selber ist einkernig. Als Haploidzahl der Chromosomen ist stets 10 beobachtet worden (Zählung nach stattgefundener Meiosis).

Skallau (Berlin).

Stoll, K., Der Apfelmehltau (Podosphaera leucotricha [Ell. u. Ev.] Salm.). (Forschungsdienst. Bd. 5. 1938. S. 513—522.)

Dieser Schadpilz gilt als einer der gefährlichsten Feinde des Kernobstes. Er ist über die ganze Erde verbreitet, allerdings müssen die Nachrichten über sein Vorkommen, die keine Beschreibung der Hauptfruchtform geben, mit Vorsicht aufgenommen werden, da leicht Verwechslungen mit P. oxyacanthae und Konvergenzbildungen möglich sind. Neben Malus communis Lam. können noch Pirus communis und Cydonia vulgaris als Wirtspflanzen in Betracht kommen. Infektionsversuche sind bislang nur bei wenigen Arten gelungen, biologische Rassen scheinen nicht vorhanden zu sein. Die sommerliche Infektion erfolgt durch die als Oidium farinosum bezeichnete Konidienform. Der Einfluß der Belichtung ist noch unklar, da einige Beobachter eine Schädigung der nur wenige Stunden erhalten bleibenden Keimkraft der Sporen durch das Sonnenlicht feststellten, während andere eine Förderung der Keimungsenergie bei 4 stünd. täglicher Bestrahlung bis zu 86,9% ermittelten. Die Mehrzahl der Apfel- und Birnensorten sind nicht streng resistent. Der Pilz befällt nur junge Blätter. Eigentümlich sind die regionalen Verhältnisse seines Auftretens. Danach haben der Rheingau, Hessen-Nassau, Freistaat Sachsen, Westfalen, Brandenburg besonders zu leiden, außerdem sind jährliche Schwankungen bekannt. Einflüsse von Klima und Boden sind ebenfalls noch unklar; trockene, warme Witterung soll den Befall begünstigen, Regen- und Dürreperioden dagegen nicht. Bäume auf sandigen Böden werden offenbar leichter befallen als solche auf lehmigem Boden. Windgeschützte Stellen sind dem

Befall wieder leichter zugänglich. Der Pilz überwintert in Myzelform in den Knospen. Die Bekämpfung ist deshalb schwierig, S-haltige Mittel neben hochsiedenden Phenolen werden zur Zeit am meisten angewandt.

Skallau (Berlin).

Buston, H. W., Kasinathan, S., and Wylie, S. M., The Nitrogen Requirements of Nematospora gossypii in Synthetic Media. (Ann. Bot. N. S. Vol. 2. 1938. p. 373—379.)

Dieser Schadpilz wuchs in Gegenwart von Inosit und Linsenextrakt auf verschiedenen Aminosäuren wie Glyzin, Leuzin, Prolin, Histidin usw. schlecht, besser schon auf einfachen Gemischen zweier solcher Säuren. Hingegen verursachten Asparagin- und zuweilen auch Glutaminsäure normales Wachstum. Ammoniumsalze anorganischer und organischer Säuren wie Sulfat, Nitrat, Chlorid, Tartrat, Laktat, Pyruvinat usw. lieferten sehr schlechtes Wachstum, Asparaginate hingegen sehr gutes. Durch Zusatz von β-Alanin wurde mäßiges Wachstum erzielt, ebenso wenn ein Teil des N in Form der Aminosäuren gegeben wurde. β-Alanin übte im allgemeinen stimulierende Wirkung aus, wenn es in niedrigen Konzentrationen vorhanden war, mit Hefe ist der Erfolg nicht vergleichbar, in Gegenwart von Asparaginsäure tritt kein Stimulationseffekt auf. Ungeklärt ist noch die Frage, ob der Pilz Asparaginsäure durch Dekarboxylieren in β-Alanin umwandeln kann.

Skallau (Berlin).

Ryker, T. C., and Gooch, F. S., Rhizoctonia sheath spot of rice. (Phytop. Vol. 28. 1938. p. 233—246, 6 figs.)

Verff. beschreiben eine Fleckenkrankheit an den Blattscheiden von Reis. Der Erreger wurde eingehend untersucht, und Verff. kommen zu der Ansicht, daß es sich um eine bisher noch nicht untersuchte neue Spezies von Rhizoctonia handelt, die sie als Rhizoctonia oryzae sp. nov. bezeichnen.

Winkelmann (Münster i. W.).

Newhall, A. G., The spread of onion mildew by wind — borne conidia of Peronospora destructor. (Phytop. Vol. 28. 1938. p. 257—269, 4 figs.)

Konidien von Peronospora destructor wurden in einer Höhe von 1500 Fuß (etwa 40 m) über einem kranken Felde gefunden. Abkühlung und Einwirkung von direktem Sonnenlicht sowie das Halten in Dunkelheit bei Temperaturen von 9° C und bei einer Luftfeuchtigkeit von über 70% töteten die Konidien nicht ab. Lösungen von Malachitgrün waren für die Sporen giftiger als solche von Kupfersulfat.

Winkelmann (Münster i. W.).

Kadow, K. J., and Anderson, H. W., The value of new copper sprays as fungicides for the control of apple blotch, cherry leaf spot, and apple scab. (Phytop. Vol. 28. 1938. p. 249—257, 3 figs.)

Gegen Phyllosticta solitaria und Venturia inaequalis an Äpfeln sowie Coccomyces hiemalis an Kirschen wurden folgende Kupfermittel angewendet: Kupferkalkbrühe, Oxo Bordeaux (wirksamer Bestandteil Kupfersulfat), Basi Cop (basisches Kupfersulfat), Coposil (Kupfer-Kalzium-Kupfer-Zink-Silikat), Kupferphosphat, Cupro-K. (Kupferoxychlorid), Cuprocide 54 (Kupferoxyd), Z — O (Kupfer-Ammonium-Silikat), Bordeaux „34" (basisches Kupfersulfat), Copper Hydro 40 (Kupferhydroxyd), Special Copper (basisches Kupfersulfat), 66 a (organisches Natriumsulfonat

+ Kupfersulfat). Außerdem als Vergleichsmittel Schwefelkalkbrühe. Bei der Bekämpfung aller drei Krankheiten erwiesen sich die Mittel als wirksam mit Ausnahme von 66a. Verschiedene Mittel riefen aber Verbrennungen hervor. Es sind deshalb noch weitere Versuche erforderlich.

Winkelmann (Münster i. W.).

McLachlan, I. D., A rust of the pimento tree in Jamaica, B.W.I. (Phytop. Vol. 28. 1938. p. 157—170, 3 figs.)

Im Frühjahr 1934 wurde in Jamaica Pimenta officinalis so stark in höheren Lagen von Puccinia psidii befallen, daß fast die ganze Ernte ausfiel. Es schienen in Jamaica 2 Stämme von P. psidii vorzukommen, die auf Pimenta officinalis und Eugenia jambos parasitisch leben. P. psidii wurde in Puerta Rico auf Psidium guajava gefunden. Diese Pflanze war aber immun gegen die beiden Stämme von E. jambos und Pimenta officinalis. Pimenta acris war anfällig für den Stamm von P. officinalis, Eugenia malaccensis für den von E. jambos. P. psidii befällt die sich entfaltenden Blätter, die Blütenstände und die fleischigen jungen Zweige. Der Pilz kommt in Jamaica in der Hauptsache im Uredo-Stadium vor. Aber auch das Teleuto-Stadium wurde beobachtet, doch wurde ein Wirt für das haploide Stadium nicht gefunden. Das Auftreten der Krankheit bei Pimenta officinalis ist abhängig von der Menge des gebildeten jungen Gewebes, von der Feuchtigkeit und von der Temperatur. In Lagen unter 1000 Fuß richtet die Krankheit kaum einen Schaden an, weil dort die Temperaturen verhältnismäßig hoch sind. Die Anwendung von Fungiciden erscheint nicht angängig.

Winkelmann (Münster i. W.).

York, H. H., Inoculation with forest tree rusts. (Phytop. Vol. 28. 1938. p. 210—212, 1 fig.)

Verf. beschreibt eine Methode, mit der er mit bestem Erfolg Infektionen mit verschiedenen Rostarten an Bäumen vornehmen konnte.

Winkelmann (Münster i. W.).

Hirt, R. R., Relation of stomata to infection of Pinus strobus by Cronartium ribicola. (Phytop. Vol. 28. 1938. p. 180—190, 2 figs.)

Nach den Untersuchungen des Verf.s ist es wahrscheinlich, daß das Öffnen und Schließen der Spaltöffnungen keinen Einfluß auf die Infektion von Pinus strobus mit Cronartium ribicola hat. Bei einer Infektion mit Primär-Sporidien hält es Verf. für notwendig, daß die günstige Witterung für die Infektion mindestens 10 Std., bei einer solchen mit Sekundär-Sporidien mindestens 4 Std. anhält, weil erst dann die Hyphen das Mesophyll erreicht haben. Winkelmann (Münster i. W.).

Emon, J., Court-noué et Phylloxera. (Revue de viticulture. T. 88. 1938. p. 303—305.)

Verf. schildert eine Reihe von Beobachtungen, die er in Südfrankreich und Oberitalien über die gefährliche Ausbreitung der in Frankreich Court-noué genannten Krankheit und über ihre Abhängigkeit von der Reblausverseuchung gemacht hat. Er vermutet, daß die Court-noué durch die Veredlung übertragen wird, indem kranke Unterlagen verwendet werden. Die Reblaus spielt dabei nach Verf. anscheinend nur insofern eine Rolle, als sie die Wurzeln zum Absterben bringt, wodurch dann die Court-noué sich um so

rascher ausbreiten kann. Einzelne Aestivalis- und Monticola-Unterlagen, die nahezu ebenso reblausanfällig sind, wie die Unterlage 1202, zeigen eine vollkommene Widerstandsfähigkeit gegen Court-noué. Dagegen sind die so beliebten Berlandieri-Unterlagen stark anfällig. Anscheinend spielen Bodeneinsenkungen und die Temperatur eine Rolle bei der Ausbreitung der Court-noué. Das Problem der Rebenveredlung ist noch weit entfernt von einer brauchbaren Lösung, weil nun Unterlagen gezüchtet werden müssen, die nicht nur gegen die Reblaus, sondern auch gegen die wirtschaftlich ebenso bedeutungsvolle Court-noué widerstandsfähig sein müssen.

K. Müller (Freiburg i. Br.).

Pal, B. P., and Tandon, R. K., Types of tobacco leaf-curl in northern India. (Indian Journ. of Agric. sc. Vol. 7, 3. 1937. p. 363—393.)

Die durch Blattkräusel-Virus an indischen Tabaksorten hervorgerufenen Schäden betrugen normalerweise 5—10%, führten aber bei günstiger Entwicklung der Krankheit eine völlige Vernichtung der Ernte herbei. Die günstigste Infektionszeit läuft von Ende Oktober bis Anfang November, wenn die Sämlinge ausgepflanzt werden. Im Gegensatz dazu blieben die Pflanzen in den Saatbeeten fast völlig symptomfrei. Die Ausbreitung der Krankheit schien mit dem Auftreten von bestimmten Insekten in engem Zusammenhang zu stehen.

Es gelang, 5 verschiedene Typen, als A, B, C, D und X bezeichnet, zu erkennen, von denen „X" eine Kombination aus zwei oder mehreren Viren darstellt. Die Symptome sind durch zahlreiche Abbildungen wiedergegeben und bestehen im wesentlichen aus folgendem: Zwergwuchs, mehr oder weniger starke Kräuselung der Blätter, Verdickung und intensive Grünfärbung der Blattnerven, Kräuselung und Verkürzung des Blütenstandes u. a. m. Infektionsversuche durch Pfropfung verliefen positiv, Saft- oder Samenübertragungen negativ. Innerhalb der Solanaceen gelangen Übertragungen auf Nicotiana rustica, N. glutinosa, Solanum nigrum und Lycopersicum esculentum, ferner zeigten nach Infektion die gleichen Symptome Zinnia elegans, Petunia sp., Althaea rosea, Hibiscus rosa-sinensis, Crotalaria juncea und Scoparia dulcis. Um der Krankheit wirksam begegnen zu können, dürfte nur die Züchtung resistenter Sorten in Frage kommen. Entsprechende Versuche sind jedoch bisher negativ verlaufen. Bärner (Berlin-Dahlem).

Bennett, C. W., and Wallace, Hugh E., Relation of the Curly Top Virus to the Vector, Eutettix tenellus. (Journ. Agric. Res. Vol. 56. 1938. p. 31—51.)

Die Rübenzikade Eutettix tenellus (Baker) nimmt das Virus von verseuchten Pflanzen in einer Minute auf und virustragende Tiere infizieren gesunde Pflanzen bei der Nahrungsaufnahme binnen einer Minute. — Nichtinfektiöse Tiere, die an verseuchten Pflanzen ausgesetzt wurden, erwarben in 2 Tagen hinreichend Virus, um ihren höchsten Ansteckungsgrad zu erlangen. — Eine Hungerperiode von 18 Std. schwächte das Übertragungsvermögen während der ersten 6 Min. der Nahrungsaufnahme.

Virus wurde gewonnen aus Blut, Speicheldrüsen, Kot und Darmtraktus. Das Blut enthält den meisten Virus-Vorrat.

Der Virus-Gehalt und die Möglichkeit der Weiterinfektion läßt in Virus-Trägern in der Zeit von 8—10 Wochen nach, sobald diese auf eine sehr wider-

standsfähige oder immune Pflanze gesetzt werden (australische Strandmelde). Tiere, die eine geringe Virus-Menge in sich hatten, welche sie durch 6stünd. Saugen an dem Extrakt eines virustragenden Individuums aufgenommen hatten, verloren die Fähigkeit zum Infizieren der Pflanzen nach 54 Tagen, wenn sie täglich auf kleine Rübenpflänzchen übertragen wurden. Wahrscheinlich findet keine Vermehrung des Virus in dem Tier statt.

Einzelne Tiere waren besonders starke Virus-Überträger. Durch Zuchtwahl wurden besonders gute und besonders schlechte Virus-Überträger gezogen. Karl Gößwald (Berlin-Dahlem).

Maldwyn, W. Davies, and Whitehead, T., Studies an Aphides infesting the Potato Crop. VI. Aphis Infestation of isolated Plants. (Ann. Appl. Biol. Vol. 25. 1938. p. 122—142.)

Die Untersuchungen sollen die Beziehungen zwischen der Verbreitung der Blattlaus Myzus persicae und der Verbreitung von Virus-Krankheiten ergründen. Die Ausdehnung der Wanderungen geflügelter Aphiden wird festgestellt, ferner deren Fähigkeit, die Wirtspflanzen aufzufinden. Ferner wird die Entwicklung der Aphiden-Population in isolierten Beständen verfolgt und die Möglichkeit des Schutzes der Kartoffeln vor Virus-Krankheiten erörtert. Karl Gößwald (Berlin-Dahlem).

Tierische Schädlinge.

Riggert, E., Der augenblickliche Stand der Schädlingsbekämpfung im Ölfruchtbau. (Deutsch. Landw. Presse. 65. Jahrg. 1938. S. 213—214 u. 225.)

Im vorstehend genannten Aufsatz werden die wichtigsten neueren Ergebnisse über Lebensweise und Bekämpfung von Ölfruchtschädlingen, wie Kohlerdflöhe, Kohlgallenrüßler (Ceutorrhynchus pleurostigma), Rapserdfloh (Psylliodes chrysocephala), Rapsglanzkäfer (Meligethes aeneus) und Kohlschotenrüßler (Ceutorrhynchus assimilis) besprochen. Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Börner, C. und Schilder, F. A., Die Verbreitung der Reblaus in Deutschland nach dem Stande des Jahres 1937. (Beilage zum Nachrichtenbl. f. d. Deutsch. Pflanzenschutzdienst. 18. Jahrg. 1938. S. 1—14.)

Die Reblaus wurde im Jahre 1937 in 62 bisher nicht verseuchten oder sanierten Gemarkungen erstmalig festgestellt. Die stärkste Zunahme hatten Baden und die Rheinpfalz aufzuweisen, die einen erheblichen Anbau von Hybriden haben. Insgesamt ist die Zahl der verseuchten Gemarkungen auf nunmehr 400 angewachsen. In 60 von diesen wurde die kurzrüßlige Reblaus festgestellt. Ihr Verbreitungsgebiet erstreckt sich über Teile von Baden, der Rheinpfalz und des Saarlandes. Der Anteil der Pfropfreben an der Gesamtrebfläche beträgt jetzt 5%. Die Umstellung der Hybriden hat in Baden, Württemberg, dem Saarland und der Pfalz weitere Fortschritte gemacht. Zum Teil ist die Umstellung bereits ganz durchgeführt worden.

Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Hampp, H. und Jehl, J., Erdflohbekämpfungsversuche bei Hopfen auf dem Hopfenversuchsgut in Hüll 1937. (Deutsche Brauwirtschaft. Bd. 46. 1938. S. 217.)

Wie bei allen Versuchen seit 1926, haben sich die Derrispräparate als

Stäubemittel absolut zuverlässig gezeigt, wenn die notwendige Menge nicht unterschritten wurde. Sie zeichnen sich gegenüber allen anderen Stäubemitteln, den Pyrethrum-, Nikotin- und Arsenpräparaten, vor allem gegenüber allen Spritzmitteln durch ihre schnelle und sicher tötende Wirkung aus. Auch sind sie billiger als die anderen Präparate. Heuß (Berlin).

Hampp, H. und Jehl, J., Erdflohbekämpfungsversuche bei Hopfen auf dem Hopfenversuchsgut in Hüll 1937. (Nachrichtenbl. f. d. Deutsch. Pflanzenschutzdienst. 18. Jahrg. 1938. S. 42.)

Auch im letzten Jahr haben sich unter den Stäubemitteln Derrispräparate als zuverlässig erwiesen. Sie sind besonders allen Spritzmitteln durch ihre schnelle und sichere Abtötung überlegen. Auch sind sie billiger als andere Mittel. Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Hampp, H. und Jehl, J., Blattlausbekämpfungsversuche auf dem Hopfenversuchsgut Hüll 1937. (Nachrichtenbl. f. d. Deutsch. Pflanzenschutzdienst. 18. Jahrg. 1938. S. 43—45.)

Von Spritzmitteln hatten Nikotinpräparate in Konzentrationen von 0,1—0,5% eine gute Wirkung. Auch Exodinal (Derris) wirkte günstig. Der Erfolg bei Anwendung von Pyrethrum-Derrismitteln war durchweg mittelmäßig. Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Hampp, H. und Jehl, J., Blattlausbekämpfungsversuche auf dem Hopfenversuchsgut Hüll 1937. (Deutsche Brauwirtschaft. Bd. 46. 1938. S. 218—219.)

Der Blattlausbefall und die damit verbundene Gefährdung des Hopfens können nur schwer zum voraus beurteilt werden. Die mehr oder minder schnelle Vermehrung der Blattläuse ist wie die ihrer natürlichen Feinde von der Witterung abhängig. Der Verlauf des Blattlausbefalls in den Jahren 1935 und 1937 zeigte deutlich die Notwendigkeit fortwährender Beobachtung der Hopfengärten, namentlich dann, wenn sie stark anfällige Sorten — Tettnanger, Schwetzinger, Saazer, Spalter früh und mittelfrüh und Hierländer — enthalten. Bei der direkten Bekämpfung ist es besser, etwas zu viel als zu wenig zu tun. Sind nur die schwachen Pflanzen oder die Gipfel der Pflanzen allein befallen, so genügt die Bespritzung dieser Pflanzen und Pflanzenteile, die anderen sind aber mit besonderer Sorgfalt zu beobachten. Die Bekämpfung der Blattläuse ist nicht nur rechtzeitig, sondern auch sachgemäß durchzuführen. An Brühe darf nicht gespart werden, vor allem die Unterseite der Blätter, wo sich die Läuse aufhalten, ist zu spritzen. Zur Bekämpfung sollen nur im Hopfenbau geprüfte und bewährte Mittel genommen werden. Versuche der Verff. haben gezeigt, daß dazu heute sehr wirksame Nikotinfertigpräparate und vor allem Derris- und Derris-Pyrethrummittel zur Verfügung stehen (siehe Original). Nikotinmittel sind bis zur Blüte zu gebrauchen, die anderen Mittel sind auch während der Blüte und Doldenbildung verwendbar. Die natürlichen Feinde der Blattlaus dürfen durch die Bekämpfungsmittel nicht geschädigt werden. Heuß (Berlin).

Rumjantzew, P., Schildwanzen und ihre Bekämpfungsmaßnahmen. (Müllerei. Nr. 6. 1937. S. 42—44.) [Russisch.]

Getreide wird meist von folgenden Schildwanzenarten geschädigt: Eurigaster intergriceps Pu., Eu. maura L. und Aelia furcula Fieb. Die Schildwanze sticht das Korn an und saugt sein Endo-

sperm aus. Das Endosperm des Hartweizens wird durch den Wanzenstich locker, gewinnt schneeweiße Farbe und zerfällt beim Drücken in kleine rundliche Stückchen. Das Korn verliert bis zu 50% seines Normalgewichts und 20—83% der Keimfähigkeit. Die Backeigenschaften des Mehles aus dem durch Wanzen beschädigten Korn werden erheblich vermindert, der Kleber verliert die Elastizität, der Teig wird klebrig. Besonders stark leidet das während der Trockenheit mit Schildwanzen befallene Korn. Als Bekämpfungsmaßnahmen werden empfohlen: das Anlegen von den die befallenen Felder trennenden Gräben, Stoppelverbrennen usw. Die Anwendung chemischer Mittel hat nur in einzelnen Fällen Aussicht auf Erfolg.

M. Gordienko (Berlin).

Gawrisch, W., Einige Daten zur Biologie der Milben. (Müllerei. Bd. 2. 1937. S. 19—20.) [Russisch.]

Die Beobachtungen zeigten, daß verschiedene das Korn in Speichern befallende Milbenarten nebeneinander existieren und gleichzeitig sich entwickeln können. In den untersuchten Speichern ergab sich folgende Verbreitung: Glycyphagus destructor von 23% im Hafer bis 32,2% im Sonnenblumenkorn; Tyrophogus noxires von 13,0% in Hirse bis 43,0% im Roggen; Tyroglyphus farinae von 5,3% im Weizen bis 46,0% in Hirse; Cheyletus eruditus von 15,0% in Hirse bis 30,0% im Weizen usw. M. Gordienko (Berlin).

Korab, I. I., Milben auf den Zuckerrübensamen und ihre Bekämpfungsmethoden. (Wissenschaftl. Berichte über Zuckerindustrie. Nr. 2. 1937. S. 57—69.) [Russisch.]

Die die Zuckerrübensamen befallenden Milben gehören meist der Familie Tyroglyphidae, Cheyletidae oder Parasitidae (wie Tyroglyphus farinae L., Glycyphagus destructor Schrnk., Glycyph. ornatus Kramer, Cheyletus eruditus, Zercoscius ometes Ou. u. a.) an. Die Entwicklung der Milben hängt vor allem von dem Feuchtigkeitsgehalt der Zuckerrübensamen ab. Der optimale Feuchtigkeitsgehalt liegt in Grenzen von 16—24% (bei einer Temperatur von 18—25° C), bei einem Feuchtigkeitsgehalt von unter 11,5% hört die Entwicklung der Milben auf; als die niedrigste Temperaturgrenze gilt eine solche von etwa 10—12° C, Milbeneier können jedoch sehr tiefe bzw. hohe Temperatur ohne Schaden für sich vertragen (bis — 20°—30° C bzw. bis + 40° C). Besonders widerstandsfähig erweist sich Cheyletus eruditus. Als Bekämpfungsmittel kommen in Frage CS_2, schwefelhaltige Schlacken (H_2S), Paradichlorbenzol, Naphthalin u. a. Die Norm und die Wirkungsdauer des CS_2 soll sich hauptsächlich nach der Lufttemperatur richten: bei den Versuchen genügte bei einer Temperatur von + 15° C 200 g/1 m^3 Zuckerrübensamen bei einer Wirkungsdauer von 72 Std., bei + 20° C — 180 g im Laufe von 48 Std. usw. Schwefelhaltige Schlacke zeitigte auch gute Wirkung, dagegen Naphthalin (in Mengen von 300—500 g/1 t Samen) nicht immer, während Tabakstaub und fein gemahlene Kreide gänzlich ungenügend wirkten. M. Gordienko (Berlin).

Thomas, I., On the Bionomics and Structure of some Dipterous Larvae infesting Cereals and Grasses. III. Geomyza (Balioptera) tripunctata Fall. (Ann. Appl. Biol. Vol. 25. 1938. p. 181—196.)

Die Hauptwirtspflanzen der Diptere Geomyza tripunctata Fall. sind im Freien Lolium perenne und L. italicum. Im Labor werden auch andere Gräser sowie Weizen angegriffen. Die Larven fressen stets im Gras. Die Imago schlüpft im März und April, jährlich gibt es zwei Generationen. Die Art überwintert im Larvenstadium. Die Verpuppung findet in der Wirtspflanze statt an der Basis der Schößlinge. — Das Ei, ferner die drei Larvenstadien und die Puppe werden beschrieben.

Karl Gößwald (Berlin-Dahlem).

Hähne, H., Die Drehherzkrankheit der Kohlgewächse. (Forschungsdienst. Bd. 5. 1938. S. 284—292.)

Als Erreger dieser Krankheit wird in Deutschland, Holland, Frankreich die Cecidomyide Contarinia torquens angesehen, während man in Dänemark, Norwegen, England C. nasturtii dafür verantwortlich macht. Beide Gallmücken weichen in ihrem Lebensbild, das Verf. darlegt, nur wenig voneinander ab. Der Befall erfolgt von Gallmücken, die den überwinternden Puppen entschlüpfen, etwa Mitte Mai im Saatbeet. Da die nach 8 Tagen auskommenden Larven nur 2 mm lang werden, entgehen sie im Großbetrieb der Beobachtung durch den Züchter, und wenn dieser das Schadbild entdeckt, ist es für die wirksame Bekämpfung schon zu spät. Diese setzt zweckmäßigerweise 8 Tage nach dem Schlüpfen der Larven ein und muß 3 mal in 4 wöchigem Abstande wiederholt werden. Unter den Spritzmitteln haben sich Seifen-, Spiritus- und Nikotinlösungen bewährt, von den Stäubemitteln befriedigte nur Naphthalin. Andere Mittel sind Begasung mit Cyanogas (die Frage der Wirtschaftlichkeit ist hier noch ungeklärt), Einstreuen von NaCl ins Herz, Abschreckung mit Erdnußöl; vorbeugende Maßnahmen wie Entfernung der befallenen Pflanzen, Vermeidung windgeschützter Felder usw. sind nicht zu vergessen, die Mücken sind schlechte Flieger. Unklar sind noch die Beziehungen zwischen Auftreten der Krankheit und Witterung oder Aussaattermin.

Skallau (Berlin).

Tschegoljew, W. N., Die Wirksamkeit der „Locksaaten" des Hanfes bei der Bekämpfung des Hanfflohes. (Lein u. Hanf. 1938. Bd. 1. S. 27—29.) [Russisch.]

Von den mechanischen Bekämpfungsmaßnahmen gegen den Hanffloh erwies sich als gut die Anwendung der „Locksaaten" (Parzellen von früh ausgesätem Hanf), auf welchen dann der Hanffloh mit Hilfe von speziellen Geräten abgefangen bzw. mit dem Laub abgemäht wurde. Kieselfluornatrium mit Talk (1 : 1) bewirkte am 4. Tage nach der Anwendung eine 42 proz. Vernichtung des Schädlings. M. Gordienko (Berlin).

Goffart, H., Zur Biologie und Bekämpfung von Tausendfüßlern. (Anz. Schädlingskunde. Jahrg. 14. 1938. S. 30—32.)

Verf. berichtet über Beschädigungen an Kartoffeln durch Tausendfüßler, besonders die Art Cylindroiulus teutonicus Poc. (Londinensis Leach). Bestimmte, vorwiegend früh reifende Kartoffelsorten wurden bevorzugt befallen. Bisweilen wurde die Schale bis auf einige Reste zerstört, während das Knollenfleisch stets gesund blieb. Ein Massenauftreten kann vorgetäuscht werden, wenn der Schädling infolge Trockenheit in den Monaten Mai und Juni die Kartoffelknollen aufsucht. Nicht nur beschädigte, sondern auch gesunde Nahrung wird von den Diplopoden angenommen, wenn sie genügend weich ist, so z. B. Erbsen, Lupinen, besonders Weizen-

körner. Die Tiere benötigen eine gewisse Feuchtigkeit. Relative Luftfeuchtigkeit von 80—90% scheint am meisten zuzusagen, auch in 60% relativer Luftfeuchtigkeit können sie noch leben, 45% wirkt schädigend. Versuche mit vergifteten Weizenkörnern als Köder (1proz. Lösung von verschiedenen Giften: Strychnin, Sublimat, Kaliumarseniat, Bleiarseniat, Kieselfluornatrium) hatten nicht den gewünschten Erfolg. Von den unmittelbaren Bekämpfungsmitteln waren Naphthalin und Schwefel wenig erfolgreich. Besser wirkte Paradichlorbenzol. Karl Gößwald (Berlin-Dahlem).

Edwards, E. E., Field Investigations upon the Control of the Mustard Beetle, Phaedon cochleariae F., on Watercress. (Ann. Appl. Biol. Vol. 25. 1938. p. 197—205.)

Zur Bekämpfung des Senfkäfers Phaedon cochleariae an Brunnenkresse wurden Pyrethrum- und Derris-Präparate geprüft. Folgende Mittel waren wirksam: Pyrethrum-Emulsion von 0,01% Gehalt von Pyrethrin I zu 37,9%; Derris von 0,004% Rotenon-Gehalt zu 22,4%; Derris-Staub von 0,2% Rotenon-Gehalt zu 13,7%; Derris-Staub von 0,5% Rotenon-Gehalt zu 3,1%. Karl Gößwald (Berlin-Dahlem).

Sellke, K., Neuere Untersuchungen über Fragen der Biologie und Physiologie des Kartoffelkäfers. (Nachrichtenbl. f. d. Deutsch. Pflanzenschutzdienst. 18. Jahrg. 1938. S. 37—39.)

In diesem Sammelbericht werden neuere Ergebnisse deutscher und französischer Forscher aus dem französischen Seuchengebiet erörtert. Von den auf Resistenz geprüften Wildkartoffelstämmen haben sich Solanum demissum, S. polyadenum, S. Jamesii und S. Henryi als hochgradig widerstandsfähig erwiesen. Auf diesen Pflanzen konnten die Kartoffelkäferlarven ihre Entwicklung nicht vollenden. Larven, die mit Laub von S. demissum gefüttert wurden, zeigten eine Senkung der Herzschlaggeschwindigkeit um durchweg 42%. Nach weiteren Feldbeobachtungen wurden auch aus dem Reichssortiment 6 Kultursorten weniger befallen. Die geringere Anfälligkeit beruht auf Wachstums- und Entwicklungseigentümlichkeiten der Sorten. Andere Untersuchungen behandeln den Baustoffwechsel und die Chemie der Körpersäfte bei Larven und Käfern.

Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Gersdorf, Erasamus, Über die Ähnlichkeit der Larven des Kartoffelkäfers mit denen des Lilienhähnchens. (Anz. Schädlingskunde. Jahrg. 14. 1938. S. 42—43.)

Verf. stellt die Unterscheidungsmerkmale der Larven des Kartoffelkäfers (Leptinotarsa decemlineata) und des Lilienhähnchens (Lilioceris lilii Scop.) in einer Tabelle nebeneinander und fügt biologische Beobachtungen an. Karl Gößwald (Berlin-Dahlem).

Rieth, Günter, Ein Versuch zur Vergrämung der Maikäfer-Weibchen. (Anz. Schädlingskunde. Jahrg. 14. 1938. S. 18—21.)

Verf. berichtet über Versuche mit verschiedenen Mitteln, welche die Maikäfer an der Eiablage verhindern sollen. Geprüft wurden: Hederichkainit, Branntkalk, Naphthalin, Lysol, Karbolsäure. Hederichkainit zeigt keine Wirkung, Branntkalk nur vorübergehend für einen Tag; am zweiten Tag war die Wirkung erloschen. Reines Naphthalin wurde zu 5 dz/ha in

Gaben von je 2½ dz/ha am 24. Mai und 2. Juni gestreut: Während der ganzen Flugzeit wurde hier kein Käfer gesehen. Lysol hatte keinen Erfolg, ebensowenig Karbolsäure. Als Kontrolle für die Beobachtungen in der Legezeit wurde später in Bodenproben die Zahl der Engerlinge festgestellt. Diesem Befund entsprach die oben angegebene Beobachtung. Die Kosten für Naphthalin stellen sich bei zweimaliger Gabe von 2½ dz/ha auf 165 RM. Dieser Aufwand würde sich nur für besonders wertvolle Kulturen lohnen.

Karl Gößwald (Berlin-Dahlem).

Jarmolenko, I. M., Über die Methoden der Anwendung der Köder zur Bekämpfung der Wintersaateuleraupen auf Wintergetreide. (Wissenschaftl. Berichte über die Zuckerindustrie. Bd. 2. 1937. S. 71—72.) [Russisch.]

Es wurde die Wirksamkeit verschiedener Bekämpfungsmethoden der Wintersaateuleraupen auf Winterweizen geprüft, wobei man zu folgenden Ergebnissen kam: die Anwendung der Fanggruben ermöglichte nur sehr geringen Erfolg (es konnten im Laufe von 12 Tagen nur 10% Schädlinge abgefangen werden); das Auslegen von verschiedenen Ködern ergab viel bessere Resultate, wobei die höchste Wirksamkeit das Zuckerrübenblatt (mit 29—37% der im Laufe von 12 Tagen abgefangenen Schädlinge) zeigte. Sehr gute Resultate erzielte man auch mit gleichmäßigem Ausstreuen von zerkleinerten Zuckerrüben über das Feld. Von Giften zeigte gute Wirkung Natriumfluorid (2%) und Kalziumarsenat (1%).

M. Gordienko (Berlin).

Skorowarow, M., Die Wirkung der Temperatur und des Schwefeldioxyds auf den Erbsenkäfer (Bruchus pisi L.). (Müllerei. Nr. 6. 1937. S. 47—48.) [Russisch.]

Verf. stellte Versuche mit Trocknung bei verschiedenr Temperatur und mit Beräuchern mit SO_2 der mit Bruchus pisi L. befallenen Erbsen an und kam zu den folgenden Ergebnissen: hohe Temperatur (120° C bei einer Wirkungsdauer von 1 Std. 20 Min.) tötet den Schädling vollkommen, macht jedoch das Korn gänzlich unbrauchbar für Saatzwecke; bei einer Temperatur von 35° und 37° C blieb der Schädling zum Teil, bei einer solchen von 30—32° C fast vollständig am Leben. Auch das Beräuchern mit SO_2 ergab günstige Resultate nur bei größerer Dosis.

M. Gordienko (Berlin).

Jermolajew, M. F. und Kriwul'tzowa, A. E., Erfahrungen bei der Bekämpfung der Speicherschädlinge. (Lein u. Hanf. Bd. 1. 1938. S. 23—27.) [Russisch.]

Verff. prüften die Wirkung des Naphthalins, Talks, Superphosphats, sowie der Kreide u. ä. Bekämpfungsmittel gegen Milben in Leinsamen (Cheyletus eruditus u. a.) und kamen zu folgenden Ergebnissen: ein vollständiges Absterben der Milben wurde nur bei gründlichem Durchmischen des Naphthalins mit Leinsamen in Mengen von nicht unter 500—1000 g/1 t Leinsamen erzielt; fein gemahlene Kreide zeitigte sehr gute Wirkung bei ihrer Anwendung in Mengen von 6—9 kg/1 t Samen (ein völliges Absterben der Milben trat am 10. Tage nach der Anwendung auf); weiter wurden auch mit Superphosphat günstige Resultate erzielt; Talk vertilgte Milben nur bei Anwendung in größeren Dosen (3 kg/1 t) und erst am 30. Tage nach seiner Anwendung.

M. Gordienko (Berlin).

Abgeschlossen am 20. September 1938.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 99. No. 9|13.
Ausgegeben am 1. November 1938. 21-11-38

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über Bact. proteus, fluorescens und alcaligenes in der Milchwirtschaft, unter besonderer Berücksichtigung des Vorkommens dieser Bakterien auf dem Tilsiter Käse[1].

[Aus dem Bakteriologischen Institut der Preußischen Versuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, Kiel.]

Von Werner Dörwald.

Mit 6 Abbildungen im Text.

A. I. Einleitung.

Die Bakterien B. proteus, fluorescens und alcaligenes sind in der Literatur oft beschrieben worden. Hauser (16) hat sich als erster in seiner Arbeit über Fäulnisbildner insbesondere mit den morphologischen und kulturellen Eigenschaften des B. proteus sehr eingehend befaßt. Einige spätere, meist unbedeutendere Arbeiten ergänzen sie. Das Bact. fluorescens ist häufiger besprochen worden; der Grund hierfür dürfte in der Tatsache zu suchen sein, daß es viele dem Bact. fluorescens ähnliche Arbeiten gibt, die man in ein System einzuschalten versucht hat. Über das Bact. alcaligenes [Bac. faecalis alcaligenes Petruschky (42)] ist vor allem in letzter Zeit wenig gearbeitet worden.

Über die Farbflora der für die Farbe der Tilsiter Käseschmiere in Frage kommenden Bakterien ist bereits von Diethelm (9), Peters (41) u. a. gearbeitet worden, ohne daß diese Verfasser auf eine systematische Untersuchung der drei vorliegenden Bakterien eingegangen sind. Diese Lücke soll die vorliegende Arbeit ausfüllen, insbesondere nach der Richtung hin, unter welchen Bedingungen die Ansiedlung auf dem Hartkäse erfolgt, und wie sich die Arten gegebenenfalls auf der Käserinde verhalten.

Diese Frage scheint noch aus einem anderen Grunde berechtigt zu sein; denn B. proteus muß, mehr als schlechthin bekannt ist, als Erreger der eitrig-gelben Fäulnishöfe auf Tilsiter Käsen angesehen werden. Somit soll die vorliegende Arbeit auch ihr Teil dazu beitragen, dieses rechtzeitig zu erkennen und in Zukunft durch geeignete Behandlung zu verhindern, daß periodenweise ganze Reihen von Käsen dieser Infektion anheimfallen. Im fortgeschrittenen Stadium können solche Käse wertlos werden und somit einen Verlust für die Wirtschaft bedeuten.

[1] Erschienen als Dissertation der Philosophischen Fakultät der Christian-Albrechts-Universität, Kiel.

II. Schrifttum.

Bact. proteus.

Über die morphologischen und physiologischen Eigenschaften des Bact. proteus vulgare bringt Zeiss (57) eine kritische Zusammenfassung aller Literaturangaben. Hausers (16) Arbeit, die schon oben erwähnt wurde, entwirft ein klares Bild von diesem Bakterium. Er teilt diese Art in drei Typen ein: Proteus vulgare, Proteus mirabilis und Proteus Zenkeri. Als Unterschied führt Hauser an, daß Bact. vulgare die Gelatine schnell, Bact. mirabilis langsam und Bact. Zenkeri überhaupt nicht verflüssigt. Von der Zuckersäuerung abgesehen, könnte die letzte Gruppe von Vertretern der Bact. alcaligenes-Gruppe im engeren Sinne nicht unterschieden werden, zumal Hauser angibt, daß ältere Kulturen von Bact. proteus Zenkeri als ziemlich dicke, weißlich-graue, die ganze Gelatineoberfläche überziehende Beläge erscheinen, welche in der Mitte am stärksten sind und an der Peripherie verstreute, etwas dünnere Zonen erkennen lassen. Über das Verhalten in Milch und die Fähigkeit, Zucker anzugreifen, macht Hauser keine Angaben. Im Gegensatz zu Hausers Ansicht ist Heim (17) der Meinung, daß es sich bei der Art, die ersterer als Bact. proteus Zenkeri bezeichnet, um eine nahverwandte Art, wenn nicht um das gleiche Bact. Zopfii handelt. Als Unterschied führt er das Fehlen des Schwärmvermögens bei Bact. Zopfii an, während der Geißelbehang bei Bact. proteus etwas dichter sein soll. Lieske (31) bezeichnet Bact. proteus als ein in seiner Größe sehr variables Stäbchen, welches „allgemein bei der Proteinfäulnis auftritt". Weigmann (56) meint, daß die Fähigkeit des Bact. proteus, Fett abzubauen — wenn sie auch geringer ist als die, Kasein zu spalten —, genügt, der Milch einen bitteren, ranzigen Geschmack zu verleihen. Lehmann und Neumann (29) geben eine gute morphologische und physiologische Beschreibung und unterscheiden Bact. proteus vulgare von Bact. Zopfii, das keine Gelatine verflüssigt. Sie sprechen von Bact. proteus vulgare als von einem fäulniserregenden Pilz. Pfibram und Pulay (45) weisen auf die Ähnlichkeit von Bact. proteus vulgare und Vibrio fluorescens hin. Bergey (4) charakterisiert 13 verschiedene Stämme physiologisch und lehnt sich dabei stark an Hauser an, indem er als Grundtyp das Bact. proteus vulgare hinstellt.

Das Schwärmphänomen wird von Hauser, Ruß und Münzer (47), Hempt (19), Kollath (27), Sartorius (49), Seifert (50), Moltke (37) und Plähn (43) beschrieben. Hinsichtlich der Begeißelung stimmen die meisten Autoren, wie Reichert (46), Stigell (53) und Henneberg (20) dahin überein, daß Bact. proteus vulgare peritrich begeißelt ist. Erwähnenswert ist sodann eine neuere Arbeit von Koblmüller (25), welcher meint, es sei falsch, anzunehmen, daß „peritrich" begeißelte Bakterien wirklich allseitig auch an den Endflächen Geißeln trügen. Er stellt sich damit in Gegensatz zu Gottschlichs (11) Definition der „Peritricha", die dahingeht, daß bei Bact. proteus und Bact. typhi „die Geißeln in verschiedener Anzahl rings um den Bakterienleib verteilt sind und auch von den Seiten entspringen". Es müßte seiner Meinung nach nicht „auch", sondern „nur" heißen.

Über das Vorkommen im Käse im allgemeinen oder auf dem Tilsiter Käse werden in der Literatur nur sehr vereinzelte Andeutungen gemacht. Hierüber fehlt jede planmäßige Arbeit. Steinfatt (52) wie Grimmer und Prinz (14) erwähnen die drei besprochenen Bakterien in ihren Untersuchungen über die Flora des Tilsiter Käses überhaupt nicht. Henneberg (20) weist darauf hin, daß die durch toxinbildende Proteusarten infizierten giftigen Käse glücklicherweise selten sind. Andererseits ist er der Meinung, daß Bact. proteus oft im Weichkäse, im Harzer Käse zu finden sei. Harrison (15) fand das Bakterium in der Milch und gelegentlich im Käse, wo es „wegen des von ihm verursachten schlechten Aromas nicht gern gesehen sei".

Die Toxinbildung ist die am häufigsten besprochene Eigenschaft dieses Bakteriums. Meyerhoff (35) lehnt eine toxische Wirkung bei einfacher Verfütterung von Kulturen ab. Erst „durch eine Injektion von jauchigen Flüssigkeiten in die Blutbahn" könne ein Absterben der Tiere erreicht werden. Derselben Meinung ist Hauser, wenn er sagt, daß die Proteusarten bei der fauligen Zersetzung tierischen Gewebes ein Gift erzeugen, von welchem „schon geringe Mengen ausreichen, um, in die Blut- oder Lymphbahn gebracht, kleinere Tiere unter den Erscheinungen der putriden Intoxikation zu töten". Plähns Fütterungsversuche mit infizierten Kartoffelscheiben an Mäuse verliefen meist tödlich. Er schließt hieraus, daß Bact. proteus toxische Wirkungen hervorrufen kann.

Versuche von Heinze (18) ergaben, daß sich schon bei Vorhandensein von verhältnismäßig geringen Mengen CS_2 in flüssigen Kulturen von Bact. fluorescens und proteus diese Organismen nicht besonders entwickelten, und daß bei größerer CS_2-Gabe eine Entwicklung überhaupt nicht festgestellt wurde; über die tödlich wirkende CS_2-Gabe konnte noch kein sicherer Aufschluß gewonnen werden. In der wachstumshemmenden Wirkung steht dem CS_2 die Phosphorsäure nahe.

Bact. fluorescens.

Mit Recht sagt Hüttig (23), daß zusammenfassende Darstellungen über Bact. fluorescens selten sind, und dann meist nur an Hand eines sehr kleinen Materials gewonnen wurden. Die ältere Literatur befaßt sich hauptsächlich damit, Bact. fluorescens in Gegensatz bzw. in Einklang zu bringen mit den Organismen, die wenig von ihm abweichen. Es mag genügen, wenn erwähnt wird, daß von den neueren Forschern, wie Přibram und Pulay, Lehmann und Neumann, Lantzsch (28) und auch Lieske eine Trennung von Bact. fluorescens und putidum, evtl. pyocyaneum nicht für möglich gehalten wird; sie halten vielmehr diese Arten für voneinander abweichende Formen. Im Gegensatz hierzu stellt Hüttig die Unterschiede zwischen Bact. fluorescens und Bact. putidum klar; er ist mit Bergey und Henneberg derselben Meinung, daß Bact. fluorescens einen gelbgrünen bis blaugrünen Farbstoff erzeugt, während Storck (54) drei fluorescensähnliche Stäbchen isoliert hat, die allerdings kein Fluorescein bildeten. Die Grünfärbung ist letzten Endes eines der Kriterien zur Identifizierung des Bact. fluorescens; die verlorengegangene Farbe ist jedoch in den meisten Fällen regenerierbar. Lehmanns Schule konnte die Feststellung von Burckhardt (8), daß Bact. fluorescens 2—5 Geißeln besitzt, bestätigen; bis auf weiteres muß dies als eines der wichtigsten Merkmale angesehen werden. Beachtlich ist, daß nach Lehmann und Neumann Bact. proteus vulgare mit Vertretern der Fluorescensgruppe serologische Verwandtschaft (Agglutination) zeigen soll. Hiernach ist, wie Lehmann und Neumann richtig bemerken, vor einseitiger Anwendung der Agglutination bei der Diagnose zu warnen.

Bact. fluorescens ist in der Natur überall vertreten. Nach Lehmann und Neumann ist es eines der gewöhnlichen Bewohner von Wasser und Erde; auch in Milch und im Mageninhalt kommt es vor. Henneberg meint, daß es für die oft auftretende gelbgrüne Farbe der Rindenschmiere der Käse verantwortlich zu machen sei, betont jedoch an anderer Stelle, daß jedenfalls wegen der Salzempfindlichkeit des Bakteriums keine allzugroße Gefahr für das Auftreten dieses Fehlers bestehe. Durch das starke Eiweißlösungsvermögen ist nach Hüttig die Möglichkeit einer vorzeitigen Auflösung der Käsemasse gegeben. Durch Anwesenheit von Fluorescenten könne der Käse eine grüngelbe Farbe, unangenehm fauligen und ranzigen Geschmack annehmen. Lehmann und Neumann weisen darauf hin, daß besonders die Pigmentausbildung von Temperatur, Alkalität und Phosphorsäuregehalt abhängig ist.

Wie schon unter „Bact. proteus" erwähnt, wirken geringe Mengen von CS_2 auf Bact. fluorescens bereits wachstumshemmend.

Bact. alcaligenes.

Bact. alcaligenes (Bacillus faecalis alcaligenes) wurde zuerst von Petruschky gefunden und näher bestimmt; Migula (36) und Matzuschita (34) schließen sich seinen Beschreibungen an. Petruschky charakterisiert das von ihm isolierte als ein lebhaft bewegliches Bakterium, das im gefärbten Präparat einen Kranz von Geißeln aufweist. Es wächst in Milch gut, greift keine Zucker an und gibt negative Indolreaktion. Klimenko (24) teilt die Gruppe des Bact. faecalis alcaligenes in zwei Untergruppen ein; dies erscheint jedoch unbegründet. Henneberg (21) gibt in einer kleineren Broschüre an, daß eigentlich nur die nicht säuernden und Gelatine nicht verflüssigenden Arten als Bact. alcaligenes zu bezeichnen sind. Er weist darauf hin, daß keine der von ihm untersuchten Arten mit der von Petruschky isolierten völlig übereinstimmt. Eine recht kritische Betrachtung der Literatur gibt Elsa Ryti (48), die sich streng an die von Petruschky gegebene Beschreibung des Bact. alcaligenes anlehnt. Auf jeden Fall besteht sie darauf, unter Bact. faec. alcaligenes nur solche Arten zu verstehen, die peritrich begeißelt sind. Diesen Standpunkt teilen mit ihr Heim, Gottschlich, Kreucker, Neufeld, Deelemann, de Magelhaes und andere Forscher (siehe diese bei Ryti). Dann weist sie darauf hin, daß die polar begeißelten Stämme, von verschiedenen Verfassern, wie Berg-

haus (5), Klimenko, Kollath, Kraus und Klaften (siehe Ryti) isoliert und beschrieben, dem Bact. fluorescens non liquefaciens recht nahe zu stehen scheinen, wenn nicht gar mit ihm identisch seien. Sie schlägt daher vor, diese zu der Pseudomonas-Gruppe zu zählen, etwa unter dem Namen „Pseudomonas alcaligenes". Die von Baerthlein (3) aus menschlichem Stuhl isolierten Stämme des Bact. faec. alcaligenes waren z. T. schwach gekrümmte Stäbchen. Die Formenverschiedenheit führt Pollak (44) auf die Verschiedenheit des Nährbodens zurück. In den neueren Auflagen fußen Lehmann und Neumann auf die Untersuchungen von Strecker (55) und wollen Bact. faec. alcaligenes als einen polar begeißelten Vibrio hinstellen, welcher nichts mit dem Bakterium der Typhus-Coli-Gruppe zu tun hätte.

Henneberg weist mit Recht eine Identifizierung dieses 1—6fach begeißelten Vibrios mit dem von Petruschky beschriebenen Bact. alcaligenes zurück, und Ryti schlägt vor, diesen Bakterien die Namen: Vibrio alcaligenes bzw. Bact. faec. alcaligenes zu geben und betont, daß die Arten sehr wohl voneinander getrennt werden müßten. Nyberg (39) ist es nicht gelungen, ein Stäbchen zu finden, welches völlig den Beschreibungen Petruschkys entspricht. Verfasser gibt die interessante Tatsache an, daß Monias (38) zwei Stämme Petruschkys nach etwa 30 Jahren wiederholt untersucht hat. Es ergaben sich folgende Eigenschaften: Gramnegativ; ebenso lange wie dicke, durch peritriche Geißeln bewegliche Organismen, die glatte Kolonien bildeten. Die Indolreaktion war positiv; verschiedene Zucker wurden unter Säure- und Gasbildung zersetzt. Diese Arbeit, die nachzuprüfen interessant gewesen wäre, war leider für mich nicht erreichbar.

Über das Vorkommen der typischen Bact. alcaligenes-Gruppe auf dem Tilsiter Käse ist in der Literatur so gut wie nichts bekannt; meist wurde die gesamte Gruppe der Alkalibildner behandelt. Dagegen ist die Frage nach der Pathogenität des Bact. alcaligenes häufiger erörtert und untersucht worden. Lehmann und Neumann geben an, daß eine größere Pathogenität nicht nachgewiesen sei. Strekker konnte jedoch durch Trinken von Kulturen Darmstörungen erzeugen und meint, daß Bact. alcaligenes als Krankheitserreger nur bedingt wichtig sei. Auch Boecker und Kauffmann (6) glauben, daß es Darmkrankheiten hervorrufen könnte. Genauer befaßt sich mit dieser Frage Lindemann (32), der die Unklarheit, die über diese Frage herrscht, damit zu beseitigen meint, daß „niemals Bilder und Symptome beobachtet wurden, die einen einigermaßen selbständigen Charakter beanspruchen können". Oft sei zwar die Rede davon, daß z. B. eine Zystitis durch Bact. coli und Bact. proteus hervorgerufen werde. In Zystitisfällen hätte man jedoch meist Reinkulturen von Bact. alcaligenes isoliert. Verfasser gibt dann in seiner Arbeit eine kritische Zusammenfassung der wesentlichsten Ergebnisse über dieses Thema. Eine Reihe von Forschern erwähnt Todesfälle bei Menschen, bei denen Bact. alcaligenes aus Milz, Leber, Galle und Darm isoliert werden konnte.

Hillenberg und Bierotte (22) beschreiben sogar eine Massenvergiftung durch Fleisch eines infizierten Kalbes. Die Krankheitssymptome der daran vergifteten Menschen seien denen der Cholera ähnlich.

Nach Petruschky wirkt jeder Stamm für Meerschweinchen — intraperitoneal verimpft — tödlich. Eigenartigerweise soll das Bakterium anschließend aus keinem Organ zu züchten sein. Jedenfalls — so schließt Lindemann — sei intraperitoneale Impfung von Meerschweinchen der feinste Indikator für eventuelle Virulenz eines Stammes. Innerhalb von 4 Tagen würden im positiven Falle die Tiere eingehen.

B. Eigene Untersuchungen.

Die Frage nach dem Vorkommen der drei Bakterienarten auf der Oberfläche des Tilsiter Käses und den hiermit verbundenen Einflüssen ist nie erörtert worden. Es schien daher angebracht, entsprechende Untersuchungen anzustellen, bei denen zweckmäßigerweise folgende Einteilung zugrunde gelegt wurde:

1. Welche Lebensbedingungen finden diese drei Bakteriengruppen auf dem Tilsiter Käse vor?
2. In welchen Reifungsstadien der Käse und in welcher Menge sind sie auf dem Käse vertreten?
3. Welche Lebensbedingungen stellen sie?

4. Wie verhalten sie sich in Milch und Käse unter verschiedenen Bedingungen?
5. Sind Bact. proteus und Bact. alcaligenes als Toxinbildner zu fürchten?

Die erste Frage ist in der Literatur nur ganz allgemein behandelt worden; speziell für diese drei Bakteriengruppen soll sie anhand dieser Angaben erörtert werden. Die letzten 4 Fragen wurden durch eigene Untersuchungen zu lösen versucht.

I. Welche Lebensbedingungen finden die drei Bakteriengruppen auf dem Tilsiter Käse vor?

Entscheidend für die Ansiedlung ist u. a. das Vorhandensein des Milchzuckers.

Versuche von Babcock und Russell (2) und von v. Freudenreich (10) haben ergeben, daß die von ihrem Molkengehalt durch Auswaschen weitgehend befreiten Käse schon nach 2 Wochen eine völlig andere Konsistenz aufweisen als normale Käse. Die bakteriologische Untersuchung ersterer ergab nach dieser Zeit „sehr zahlreich auftretende, verflüssigende Bakterien"; bei normalen Käsen waren sie dagegen nur spärlich nachzuweisen. Dies dürfte darauf hinweisen, daß die durch den Waschprozeß von Milchzucker weitgehend befreiten Käse den peptonisierenden Formen günstigere Entwicklungsmöglichkeiten in dem Käse bieten. v. Freudenreich gibt sogar an, daß in solchem Käse nach 14 Tagen Bact. fluorescens den Hauptanteil an der Flora der verflüssigenden Bakterien hatte.

Das Vorhandensein von Milchzucker ist also für die normale Reifung der Käse notwendig insofern, als die ihn verzehrenden Milchsäurebakterien mittels der produzierten Säure die peptonisierenden, säureempfindlichen Bakterien weitgehend verdrängen.

Nach Orla-Jensen (40) ist der Milchzucker bereits nach 3 Tagen im Käse nicht mehr nachweisbar; andere von Grenz (12) ausgeführte Versuche ergaben, daß die Milchsäure im Laufe der Reife völlig verschwindet.

Übereinstimmend hiermit haben Grimmer und Aronson (13) festgestellt, daß in ihren Versuchen die Zahl der Milchsäurebakterien nach kurzem Anstieg in den ersten Tagen stetig abnehme (Abb. 1). Die Diplo- und Streptokokken, die im Bruch mit 122 000 im Gramm vertreten waren, nahmen in 14 Tagen an Zahl stark ab (Rinde 45 000, Inneres 18 500). Nach 1 Monat zählten sie im Inneren noch 1000 Keime, während auf der Rinde alle verschwunden waren oder aber es wurden Stämme gefunden, die kaum noch zu einer Milchsäureproduktion fähig waren (degenerierte Form).

Es ist hiernach wahrscheinlich, daß diese Abnahme zurückzuführen ist in der Hauptsache auf:

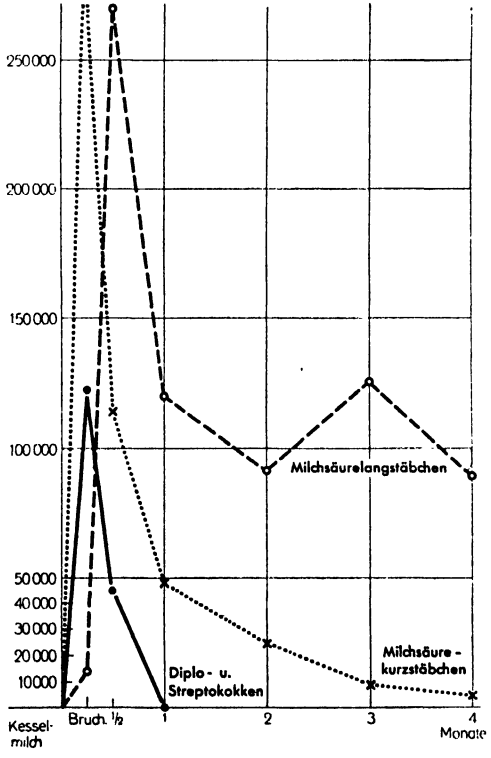


Abb. 1. Säurebildner auf dem Tilsiter Käse.

1. das rasche Absinken des Milchzuckergehalts,
2. eine zumindest gleichbleibende, wenn nicht steigende Azidität im Anfang der Reifung.

Darüber hinaus ist vermutlich die Azidität in der Rindenzone wegen des geringeren Wassergehaltes relativ größer als im Innern. Sie beträgt nach Schulz (51) nach 14 Tagen und noch bis zu 4—5 Monaten p_H 5—6.

Durch das tägliche Schmieren mit Käserotbakterien wird die Zusammensetzung der Oberflächenflora weitgehend beeinflußt. Bact. linens und gelbe Kokken der Rotschmiere steigerten nach eigenen Versuchen ihr Wachstum linear von p_H 5,0—8,3. Daraus geht hervor, daß die Rotschmiere in der ersten Zeit eine Azidität antrifft, die für eine Vermehrung der Bakterien nicht günstig ist, in deren p_H-Bereich jedoch sehr wohl Wachstum eintreten kann, was in eigenen Versuchen bestätigt wurde.

Mit dem Auftreten der Rotschmiere beginnt nach Koestler (26) eine Entsäuerung des Hartkäseteiges von der Rinde her, woraus er den Schluß zieht, daß die Rindenflora für diese Entsäuerung verantwortlich zu machen sei; denn bei dauernder Sterilhaltung der Rinde trat kein nennenswerter Säureabbau von der Rinde her ein. Die Abbauprodukte der Rotschmierbakterien drücken also die Azidität so weitgehend herunter, daß die Wachstumsbedingungen für Bact. proteus, Bact. fluorescens und Bact. alcaligenes, die, wie in später folgenden Versuchen bestätigt wurde, ihr p_H-Optimum im alkalischen Medium haben, in dieser Hinsicht immer günstiger werden. Die zunehmende Verarmung der Rinde an Wasser sowie der hohe Kochsalzgehalt treten jedoch einer ungehinderten Ausbreitung dieser Bakterien weitgehend entgegen.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß sich die Verhältnisse auf Tilsiter Käse im Laufe der Reifung ständig ändern; da nun, wie später folgende Versuche ergeben haben, die Ansprüche der drei zu untersuchenden Bakterien verschieden sind, wird deren Vorkommen auf dem Tilsiter Käse dementsprechend sein.

II. In welchen Reifungsstadien der Käse und in welcher Menge sind die drei Bakteriengruppen auf dem Tilsiter Käse vertreten?

a) Isolierungsmethodik.

Zur Bearbeitung vorstehender Fragen wurde die Flora von möglichst vielen Käsen auf diese drei Bakterien hin untersucht, wobei mit Rücksicht auf das umfangreiche Käsematerial die Probenahme auf möglichst einfache Art erfolgte.

Zu dem Zweck steriler Probeentnahme dienten kleine, schmale Glasstäbchen, die so in die Röhrchen gebracht wurden, daß sie am Stopfen herausragten. Nachdem das Ganze sterilisiert war, konnte man mit Hilfe dieses Stäbchens gut die Schmiere vom Käse abschaben, ohne daß Infektionen aus der Luft zu befürchten waren.

Ein unmittelbares Ausstreichen auf feste Nährböden erwies sich als unzweckmäßig, da eine gewisse Klumpung und Übereinanderlagerung die Übersicht unmöglich gemacht hätte. Daher wurden die Proben zunächst in einem Reagenzgläschen mit einem dicken, angerauhten Glasstäbchen mit wenig sterilem Leitungswasser verrieben und alsdann anfangs im Klatschpräparat mikroskopiert. Hierbei war es nicht schwer, die beweglichen Arten von den unbeweglichen zu unterscheiden. Lag die Wahrscheinlichkeit der Anwesenheit des Bact. proteus, fluorescens oder alcaligenes nahe, so wurde zunächst im Federstrich nach Henneberg (20) untersucht; jedoch eignete sich diese Methode für diesen Zweck nicht sonderlich gut, da

die übrige Flora die zu untersuchenden Bakterien oft rasch überwucherte. Es wurde dann auch die Agar-Deckglasmethode nach Henneberg versucht, die, in geeigneten Verdünnungen angefertigt, eine bessere Übersicht versprach. Da die hiermit geschaffenen Bedingungen für Bact. proteus, fluorescens und alcaligenes jedoch weitgehend anaerob und somit durchaus nicht optimal waren, ergab dieses mikroskopische Verfahren einen nur bedingt richtigen Befund. Es wurde daher die Aufschwemmung auf Agar ausgestrichen, um günstigere Verhältnisse zu schaffen. Nach 24stündiger Bebrütung bei 30° wurden dann Deckgläschen auf die Kolonien gebracht, um diese zu mikroskopieren. Das Ergebnis war außerordentlich gut, denn die Bewegung, besonders in den Randzonen, war lebhafter als unter anaeroben Bedingungen; ebenfalls waren die Schwärmzellen des Bact. proteus kräftiger ausgebildet und zeigten außerordentlich lebhafte, schlängelnde Bewegung. Bact. fluorescens bildete schlanke Stäbchen aus, die jedoch bis auf die in der Randzone unbeweglich waren. In der Größe zeigten sich keine Unterschiede. Die Randzellen des Bact. alcaligenes waren allgemein größer als die im Zentrum gelegenen; ob man in diesem Falle von Schwärmzellen reden kann, möchte ich dahingestellt sein lassen, zumal die Bewegung viel weniger kräftig war als die des Bact. proteus.

Als Selektivnährboden eignete sich für Bact. proteus der 3proz. Peptonagar gut, besonders dann, wenn er genügend trocken war, was schnell durch eine Alkoholbehandlung erreicht wurde. Zu diesem Zweck wurde der feste Nähragar — mit 2—3 ccm absolutem Alkohol überschichtet — in den Thermostaten gebracht. Nach kurzer Zeit war der Alkohol verschwunden und der Agar weitgehend getrocknet.

Hüttig empfiehlt für Bact. fluorescens die von Lieske angegebene „Krebslösung" (aqua dest.: 100; KNO_3: 0,5; Glyzerin: 2,0; KH_2PO_4: 0,1; $MgSO_4$: 0,01), jedoch kam man mit der üblichen Bouillon zu demselben Erfolg.

Schwieriger war es, einen geeigneten Nährboden für Bact. alcaligenes zu finden. Zunächst war die allgemeine Definition für dieses Bakterium maßgebend, daß es selbst auf zuckerhaltigen Nährböden Alkali erzeugen sollte. Der Chinablauzucker-Agar schien daher der geeignete Nährboden zu sein; es ergab sich aber im Laufe der Untersuchungen, daß der Chinablauzuckeragar die typische Kolonienbildung des Bact. alcaligenes weitgehend ungünstig beeinflußte. Die Überlegung, daß das Bakterium keine Zucker angreift, führte zu dem Schluß, daß es auf zuckerfreien Nährböden mindestens ebensogut gedeiht wie auf zuckerhaltigen; ebenfalls waren die Konkurrenz der zuckerangreifenden Organismen sowie deren Stoffwechselprodukte nicht allzusehr zu befürchten, da es sich nämlich bei dem Bact. alcaligenes um ein gegen Säure empfindliches Stäbchen handelt. Der 3proz. Peptonagar schien mir daher der geeignete Nährboden zu sein. Das Ergebnis war gut, denn die Kolonienbildung war ausgezeichnet.

b) Vorkommen der Bakteriengruppen auf dem Tilsiter Käse.

Die Tabellen von Grimmer und Aronson, die über das Vorkommen der verschiedensten Bakterienarten in und auf dem Tilsiter Käse berichten, sagen nichts über Bact. proteus, fluorescens und alcaligenes aus. Vorversuche zeigten bald, daß diese drei Bakterien nicht regelmäßig auf dem Tilsiter Käse vorhanden sind, sondern daß sie scheinbar nur unter geeigneten Bedingungen auftreten. Daher schien es nicht wichtig, aus einem oder einigen wenigen Käsen Proben zu entnehmen, um hieraus Reinkulturen zu isolieren und sie zu bestimmen, sondern es galt, möglichst viel Untersuchungsmaterial zu erfassen, um zahlenmäßig aussagen zu können, wieviel Käse der verschiedenen Altersstufen Vertreter dieser drei Bakterien enthielten.

Wenn auch sechs Käsekeller aufgesucht wurden, aus denen 237 Proben gesunder wie fehlerhafter Käse zur Untersuchung gelangten, so können die Ergebnisse dieser Versuche selbstverständlich keinen Anspruch auf allgemeine Gültigkeit machen, zumal es sich durchweg um Käseproben aus Holsteiner Käsekellern handelte.

1. Bact. proteus.

Aus Abb. 2 geht hervor, daß die Proteusinfektionen von Anfang an auf der Rinde bis zum 3. Monat zunehmen. Während noch bis zum 1. Monat nur 18,4% der untersuchten Käse eine Proteusinfektion aufwiesen, waren es im 2. schon 26,9% und im 3. Monat 57,3%; d. h. mehr als die Hälfte aller Tilsiter Käse waren im 3. Monat mit Bact. proteus infiziert. Auf viermonatigen und älteren Käsen konnte Bact. proteus nur noch bei 13,4% nachgewiesen werden.

Wie ist dieses schnelle Ansteigen von 18,4% auf 57,3% zu erklären?

Entsprechende Versuche ergaben, daß Bact. proteus bei p_H 4,9 sein Wachstum einstellt. Da die p_H-Werte bei frischem Käse etwa um p_H 5,0 liegen, wird es verständlich, daß auf ganz jungen Käsen niemals Bact. proteus gefunden wurde. Es wurde schon ausgeführt, daß der Milchzucker bereits nach ein paar Tagen aus dem Käse verschwunden ist und nach einigen Wochen — jedenfalls von der Rinde — sind es auch die Milchsäurebakterien. Mit diesem Zeitpunkt wächst die „Proteusbereitschaft" der Käse; tatsächlich ergaben ja auch die Untersuchungen eine Zunahme der Proteus-Infektionen vom ersten bis zum dritten Monat. Nach neueren Untersuchungen von Schulz (51) hält sich der Milchzucker bei höherem NaCl-Gehalt länger im Käse, was natürlich nicht ohne Einfluß auf die Flora, insbesondere die Milchsäurebakterien bleibt. Neigt jedoch der p_H-Wert schon frühzeitig zum Neutralpunkt hin — evtl. durch zu schwaches Salzen —, so sind gerade bei jüngeren Käsen wegen ihres Feuchtigkeitsgehalts die Wachstumsbedingungen für Bact. proteus nicht ungünstig. Wenn dieses Bakterium auch nicht zu den empfindlichsten gehört, so ergaben später folgende Versuche, daß Trockenheit es rasch vernichten kann.

Die Gesamtzahl der durch eine proteus-ähnliche Fäulnis angezeigten Infektionen steigerte sich ebenfalls rasch, um im Gegensatz zu den Proteusinfektionen im vierten Monat ihr Maximum (60,1%) zu erreichen. Zu diesem Zeitpunkt ist die Rinde noch alkalischer geworden; jedoch scheint sich das Divergieren der Anzahl der Proteusinfektionen und der Anzahl Gesamtinfektionen in viermonatigen und älteren Käsen durch die stark zunehmende Trockenheit erklären zu lassen. Es ist möglich, daß vom vierten Monat ab immer mehr die Sporenbildner als Ursache einer starken Eiweißzersetzung anzunehmen sind; oder aber es findet bei eintretender Proteusfäulnis wegen der geringeren Pflege der Käse im Vergleich zu jüngeren eine Wachstumshemmung bzw. ein Absterben der Proteusbakterien durch eine Anhäufung der eigenen Stoffwechselprodukte bzw. Toxine statt. Jedenfalls konnte Bact. proteus nur noch in wenigen Fällen (10%) nachgewiesen werden.

Als Ergebnis kann angenommen werden, daß von ein- bis dreimonatigen Käsen 18,4 bis 57,3% mit Bact. proteus infiziert sind, wobei jedoch nicht jede Infektion zur Fäulnis zu führen braucht. Darüber hinaus wird vermutet, daß die ständige prozentuale Zunahme der Fäulnis auf Tilsiter Käsen meist dem Bact. proteus zuzuschreiben ist.

Sämtliche Proteusstämme bildeten Schwärmringe auf Nähragarplatten, besonders gut solche aus Fäulnisproben. Alle wiesen nach der Zettnowschen Färbung [Henneberg (20)] einen Kranz von Geißeln auf. Die Bewegung war jedoch nicht immer gleichmäßig schnell; es wurde beobachtet, daß die Proteusstämme, die aus Fäulnisproben isoliert wurden — jedenfalls

anfangs — lebhaftere Bewegung zeigten als solche, die von normalen Käsen stammten. Vielleicht mag diese Erscheinung ihren Grund darin haben, daß eine Fäulnisschmiere, die naturgemäß einen höheren Feuchtigkeitsgehalt aufweist als normale, einer Bewegung der Bakterien und einer besseren Ausbildung von Schwärmzellen und Geißeln äußerst günstige Bedingungen bietet.

Alle Stämme veränderten die Milch rasch, indem sie sie vorher meist koagulierten. Die Koagulation trat oft schon nach dem zweiten Tage ein, am 3. Tage erfolgte sie durch die Stämme aus älteren Käsen, während sie durch die aus jungen, noch nicht 6 Wochen alten Käsen zumeist erst nach dem 6. Tage erkennbar wurde. Dies wird verständlich, da, wie aus Abb. 2 ersichtlich, kein Stamm aus einmonatigen Käsen zur Fäulnis führte. Analog hierzu verlief die Gelatineverflüssigung. Stämme aus jüngeren Käsen verflüssigten unter den üblichen Bedingungen im Röhrchen in drei Tagen 2—3 ccm, solche aus älteren, vornehmlich Fäulnisschmieren bis zu 8 ccm.

Die Zuckersäuerung ergab bei 64 Proteusstämmen keine Unterschiede. Milchzucker wurde in keinem Fall gesäuert, wohl aber Traubenzucker (abgesehen von vier Stämmen). Obwohl diese Stämme nach ihren übrigen Eigenschaften typischen Proteuscharakter zeigten, verlief die Traubenzuckersäuerung negativ. Es wäre falsch, solche nicht säuernden Stämme, wie es oft geschieht, wegen ihrer scheinbar „alkalischen" Eigenschaften auf Traubenzuckernährböden zur Gruppe des Bact. alcaligenes zu rechnen.

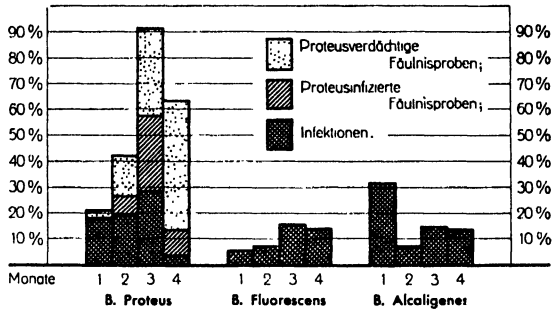


Abb. 2. Vorkommen der Bakterien auf der Rinde der Tilsiter Käse.

Wahrscheinlich ist nur die Fähigkeit, diesen Zucker zu säuern, verlorengegangen! Die fraglichen Stämme würden sich eindeutig in die Proteusgruppe einreihen lassen, wenn diese Fähigkeit regeneriert werden könnte.

Um dies zu überprüfen, wurden Versuche angestellt. Es wurde dabei ausgegangen von der Tatsache, daß nach Abderhalden das Cystin aktivierend auf die Enzyme der alkoholischen Gärung einwirkt und diese beschleunigt.

Es war die Frage, ob das Cystin auch eine Aktivierung der Fermente, die Traubenzucker säuern, bewirkt.

Zuckersäuerung.

Anfangs wurde die Zuckersäuerung auf folgende Art geprüft: In je 1 Röhrchen wurden gebracht:

2 ccm H_2O,
1 ccm 2proz. Zuckerlösung,
½ ccm Phosphatpuffergemisch (p_H 7,0),
Lackmuslösung (neutrale Färbung),
1 ccm Bakterienabschwemmung von gut vorgezüchteten Bakterienkulturen.

Zum Abtöten der lebenden Zellen wurde jedes Röhrchen mit Toluol überschichtet. Nach 48 Std. war der Versuch beendet, was man an einer Rötung bzw. Bläuung erkennen konnte.

Gleichzeitig hiermit wurden die fraglichen Kulturen 10mal über einen Cystinnährboden geschickt, der die Zusammensetzung des gewöhnlichen Nährbouillonagar hatte, in dem jedoch die Hälfte der Peptonmenge durch ½% Cystin ersetzt worden war. Dieser Nährägar wurde sterilisiert, alsdann mit Cystin versetzt und 1mal im Dampftopf erhitzt. Auf dem festen Agar wurden die Stämme bei 30° bebrütet und nach jedem Tage weitergeimpft. Nach einer 10maligen Plattenpassage schloß sich abermals eine Zuckersäuerungsprüfung im Lackmusphosphatgemisch an. Außer den 4 in Betracht kommenden Bakterien der Gruppe Bact. proteus wurden weitere 4 Stämme der Gruppe Bact. alcaligenes der Cystineinwirkung unterworfen.

Das Ergebnis war, daß drei von den vier Proteusstämmen am Ende des Versuches Traubenzucker säuerten, während die Phosphatgemischreaktion des vierten Stammes sowie der vier Bact. alcaligenes-Stämme alkalisch war. Der vierte Bact. proteus-Stamm säuerte auch nach weiteren vier Passagen keinen Traubenzucker.

Auf Fettspaltung wurde mittels der Federstrichmethode nach Henneberg untersucht. Nur etwa 10% aller Stämme zersetzte das Fett mittelmäßig bis gut. Die Indolreaktion war teils positiv, teils negativ. Milchagar wurde stets aufgehellt.

2. Bact. fluorescens.

Überraschend war das Ergebnis, das bei der Prüfung nach dem Vorhandensein von Bact. fluorescens auf dem Tilsiter Käse erhalten wurde (Abb. 2). Dieser Fluoreszent kommt überall in der Natur vor, wird jedoch auf der Käserinde durch die hohen Salzkonzentrationen zahlenmäßig auf ein Minimum zurückgedrängt. Ein schwacher Anstieg vom 1.—3. Monat von 5,4% auf 15,3% mag auf die Säurefestigkeit und hohe Resistenz gegen Eintrocknung zurückzuführen sein; im vierten Monat folgte bereits ein gewisses Abnehmen der mit Bact. fluorescens infizierten Käse auf 13,7%. Eine Verflüssigung der Rinde konnte nur in einzelnen Fällen festgestellt werden. Häufiger wurde eine schwach grünliche Verfärbnug einzelner Rindenzonen beobachtet. Diese beiden Erscheinungen traten jedoch in so verschwindend wenigen Fällen (im Vergleich zur Gesamtprobenzahl) auf, daß eine statistische Erfassung zu Ungenauigkeiten geführt hätte. Hervorgehoben zu werden verdient aber die Feststellung, daß Bact. fluorescens äußerst selten auf der Tilsiter Käserinde zu finden war und nur in den allerwenigsten Fällen zur Fäulnis führte.

Alle isolierten Fluoreszenten wiesen die für sie typische Fluoresceinbildung auf; wenn im Laufe der Untersuchung bei einigen Stämmen die Farbstoffbildung nachließ, so konnte sie mit gutem Erfolg — wie schon früher festgestellt — auf Milchagar sowie Bohnenagar regeneriert werden. Außerdem schien für diesen Zweck das Magnesium geeignet zu sein.

Die Kolonien waren dick gelagert, ihr Rand glatt. Die Größe der Bakterien betrug 0,4 bis 0,6 : 1,0—1,7 μ. Nach Zettnow angestellte Geißelfärbungen zeigten 2—6 polare Geißeln. Magermilch wurde abgebaut, jedoch nicht so schnell wie durch Bact. proteus. Durchweg begann der Abbau erst mit dem 7. Tage, nachdem sich in einigen Fällen ein sehr loses Koagulum gebildet hatte. Nach 18 Tagen war völlige Auflösung des Koagulums bzw. Peptonisation unter Grünfärbung des Substrates erfolgt. Alle Stämme verflüssigten Gelatine derart, daß innerhalb von 7 Tagen nur das oberste Viertel verflüssigt, das zweite Viertel nur in wenigen Fällen angegriffen

wurde. Die Zuckersäuerung war eines der wichtigsten Erkennungsmerkmale. Traubenzucker wurde stets gesäuert, in keinem Fall Milchzucker. Fett wurde stets zersetzt. Die Indolreaktion verlief negativ. Milchagar wurde mäßig aufgehellt, nur 3%-vermochten dies nicht.

3. Bact. alcaligenes.

Das Vorkommen von Bact. alcaligenes ergibt wiederum ein völlig anderes Bild (Abb. 3). Schon auf Käsen im Alter bis zu einem Monat ist das Maximum erreicht; es konnte aus 31,7% der untersuchten Proben isoliert werden. Während Bact. proteus und Bact. fluorescens bis zum dritten Monat immer häufiger auftraten, wurde ein plötzliches Absinken der mit Bact. alcaligenes infizierten Käse nach einem Monat festgestellt, und zwar auf einen Wert, der sich bei zunehmendem Alter der Käse kaum änderte.

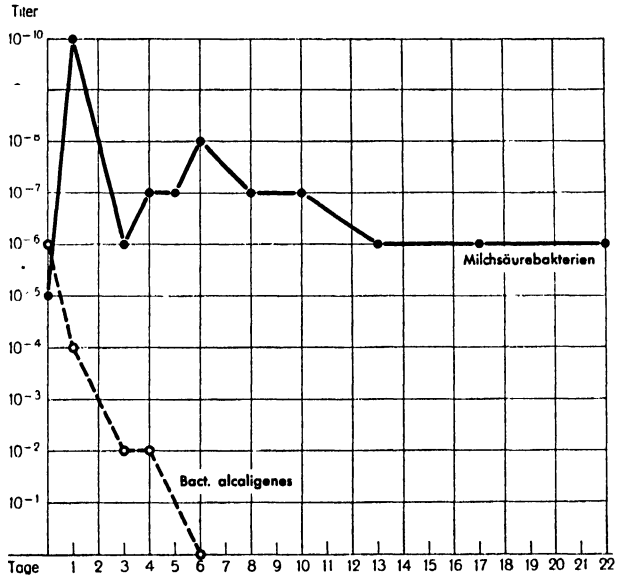


Abb. 3. Symbiose in Milch bei 20° C.

Wie kann diese Erscheinung erklärt werden? Der Kochsalzgehalt schadet Bact. alcaligenes nicht mehr als Bact. proteus; seine Empfindlichkeit gegen Säure ist nur wenig größer. Später angestellte Versuche machten es verständlich, daß Bact. alcaligenes wegen seiner großen Trockenheitsempfindlichkeit nur auf jungen Käsen auftreten kann. Sie kann mithin als Hauptgrund für diese Erscheinung angeführt werden.

Bact. alcaligenes wuchs auf 3 proz. Peptonagar in farblosen, bis opaleszierenden Kolonien, deren Rand leichte bis fädige Zackung aufwies. Bei oberflächlicher Betrachtung hätte oftmals nach dem makroskopischen Kolonienbild eine Verwechslung mit Sporenbildnern stattfinden können. Die Beweglichkeit des Bact. alcaligenes im mikroskopischen Bild war wesentlich schwächer als die des Bact. proteus. Es handelte sich um kurze gedrungene Stäbchen mit folgenden Abmessungen: 0,4—0,5 : 0,7—0,9 μ. Selten waren Stäbchen von 0,5 : 1,2 μ Größe. Niemals wurde die Vibrionenform gefunden, die man neuerdings als typisch für dieses Bakterium bezeichnet (Lehmann und Neumann). Die Begeißelung war nicht einheitlich. Meist wurden bipolar begeißelte Stäbchen, seltener peritriche gefunden. Letztere unterschieden sich vom Bact. proteus dadurch, daß dieser viel stärker begeißelt ist und längere Zilien trägt. Die Geißeln des Bact. alcaligenes ließen sich viel schwerer färben als die des Bact. fluorescens und besonders des Bact. proteus. Es konnte oftmals beobachtet werden, daß sich die Geißeln beim Ausstrich

gelöst hatten und später gefärbt frei im Gesichtsfeld lagen, weshalb es schwierig war, etwas Genaues über die Art der Begeißelung auszusagen. Ob im Falle einer polaren Begeißelung das betreffende Bakterium — wie Ryti vorschlägt — zur Pseudomonasgruppe zu zählen ist (Pseudonomas alcaligenes), möge dahingestellt bleiben.

Bact. alcaligenes wuchs in Milch gut, ohne daß der Nährboden sich dabei weitgehend veränderte. In einem Fall wurde nach 18tägiger Bebrütung bei 30° schleimige Milch beobachtet. Im allgemeinen begann nach 14 Tagen die Milch gelblich zu werden, und die Farbintensität nahm bis zum 20. Tage erheblich zu. In noch älteren Stadien wurde eine Veränderung nicht mehr wahrgenommen. Bei dem größten Teil der isolierten Bact. alcaligenes-Stämme wurde nach 16 Tagen ein Sediment beobachtet, das sich aber bei mikroskopischer Untersuchung nicht als Bakteriumniederschlag erwies. Gelatine wurde in keinem Fall verflüssigt, ein Kriterium, das für Bact. faec. alcaligenes typisch zu sein scheint. Das charakteristischste Merkmal dürfte die Unfähigkeit, Zucker anzugreifen sein. Das Traubenzucker-Lackmus-Phosphatgemisch wurde stärker alkalisiert als durch andere, ebenfalls Traubenzucker nicht angreifende Organismen. Das Milchzuckergemisch erlitt keine so weitgehende Alkalisierung.

Das Wachstum auf Kartoffeln war üppig und der Belag glänzend, ein Kriterium, das zur Unterscheidung vom Choleravibrio dient. Milchagar wurde innerhalb 21 Tagen nicht aufgehellt. Fett wurde meist zersetzt.

c) Fortzüchtung.

Zum Zwecke der Aufbewahrung bzw. Weiterzüchtung erwies sich für alle drei Bakterien gewöhnlicher Bouillonagar oder auch 3%iger Peptonagar als geeignet; letzterer besonders für Bact. proteus und Bact. fluorescens, da eine Schwächung durch die eigenen Abbauprodukte etwa anwesender Kohlehydrate nicht zu befürchten war. Zwecks Erhaltung der Eigenschaften wurden die Stämme alle 14 Tage in Bouillon aufgefrischt und auf Schrägagar geimpft.

III. Welche Lebensbedingungen stellen diese Bakterien?

Ihr Verhalten gegenüber

a) Säure und Alkali.

Im Laufe der Untersuchungen ergab sich, daß zur Erklärung des Auftretens der verschiedenen Bakterien auf dem Tilsiter Käse wesentlich zu wissen war, welchen p_H-Bereich Bact. proteus, fluorescens und alcaligenes vertragen bzw. bei welchem p_H-Wert sie nicht mehr wachsen können. Um diese zu überprüfen, wurden Versuche angestellt, bei denen der 3%ige Peptonagar Verwendung fand. Dieser Nährboden wurde mit Phosphatpufferlösungen auf verschiedene p_H-Werte eingestellt und mit je zwei Bakterien der drei Gruppen beimpft. Nach 5tägiger Bebrütung bei Zimmertemperatur (ca. 22°) wurden die Platten ausgewertet. Tabelle 1 zeigt, daß bis p_H 4,9 in keinem Fall Wachstum festzustellen war; dieses begann erst bei p_H 5,3, und zwar blieb die Ausbildung von Schwärmringen dei Bact. proteus noch völlig aus, ebenfalls war der Impfstrich des Bact. alcaligenes völlig glatt. Die Ausbildung dieser irisierenden Sehwärmzonen begann bei 6,0, während Bact. proteus seine Schwärmringe erst bei p_H 6,3 —7,0 erkennen ließ. Beide Bakterien entwickelten sich im

Tab. 1. Einfluß des p_H auf das Wachstum.

p_H	4,1	4,35	4,7	4,9	5,3	6,0	6,3	7,0	8,0	8,2	8,33	8,4	8,7
p_3	—	—	—	—	+	+	+	+ s	+ s	+ s	++ ss	+ s	+ s
p_4	—	—	—	—	+	+	+ s	+ s	+ s	+ s	++ ss	++ ss	+ s
f_2	—	—	—	—	+	+	+	++	++	++	++	+	+
f_4	—	—	—	—	+	+	++	++	++	++	+	+	+
a_2	—	—	—	—	+	+ s	+ s	+ s	+ s	++ s	++ s	++ s	+ s
a_3	—	—	—	—	+	+ s	+ s	+ s	+ s	+ s	++ s	++ s	+ s

+ = mäßiges, ++ = kräftiges Wachstum; s = mäßiges, ss = starkes Schwärmen.

Gegensatz zu Bact. fluorescens nur spärlich. Schon der p_H-Wert von 6,3 ließ bei Stamm f_4 äußerst kräftiges, glänzendes Wachstum zu. Dieser Tatsache verdankt es wahrscheinlich seine durch die Salzkonzentration immerhin auf ein Minimum herabgedrückte Existenzmöglichkeit auf dem Käse. Wenn auch die Empfindlichkeit des Bact. proteus sowie des Bact. alcaligenes gegen Säure größer ist als die des Bact. fluorescens, so reicht sie scheinbar nicht aus, um die beiden erstgenannten Bakterien — so wie das Kochsalz die Fluorescenten — von der Rinde der jungen Tilsiter Käse zu verdrängen.

Da sich die p_H-Verhältnisse beim Altern der Käse zugunsten der besprochenen Bakterien verschieben, so müßte ein stetes Ansteigen der infizierten Käse in den höheren Altersstadien die Folge sein. Die unter II. b. beschriebenen Versuche hatten tatsächlich für Bact. proteus Ergebnisse, die sich — jedenfalls was sein Vorkommen auf Käsen bis zu 3 Monaten anbetrifft —, mit dieser Vermutung decken. Das Vorkommen von Bact. alcaligenes und fluorescens ließ sich jedoch nicht mit der zunehmenden Alkalisierung der Käse erklären. Es mußte hierfür ein anderer Grund maßgebend sein. Da der Käse bei zunehmendem Alter einer weitgehenden Austrocknung, von der ganz besonders die Rindenzonen betroffen werden, unterliegt, wurden die einzelnen Bakterienarten auf ihre Resistenz gegenüber Eintrocknen untersucht.

b) Verhalten gegenüber Eintrocknen.

Je 3 Stämme des Bact. proteus, fluorescens und alcaligenes wurden auf Bouillonagar vorgezüchtet. Nachdem sich ein kräftiger Bakterienrasen gebildet hatte, wurde dieser mit wenig sterilem Wasser abgeschwemmt und in einem Reagenzgläschen so lange geschüttelt, bis eine sichtbare Klümpchenbildung nicht mehr festzustellen war. Darauf wurde je 1 Öse entnommen und an der unteren Innenwandung eines sterilen Reagenzglases ausgestrichen; dieses wurde dann bei Zimmertemperatur aufgestellt. Nach einigen Vorversuchen wurden auf diese Weise je 10 Röhrchen bereitet. Täglich wurde 1 Röhrchen mit 3proz. Peptonwasser übergossen und bei 30° bebrütet. Nach 2—3 Tagen war im positiven Fall bereits eine Trübung, also Wachstum, eingetreten. Zwecks Prüfung auf Reinheit wurden besonders die „Übergangsröhrchen" mikroskopisch und im Plattenausstrich untersucht.

Nach 14tägiger Trocknung fand im Peptonwasser kein Wachstum des Bact. proteus mehr statt. Bact. fluorescens konnte die Trocknung 4 Wochen ertragen, während Bact. alcaligenes bereits nach 4 Tagen, bei Trocknung unter Käsekellerbedingungen (ca. 15° C, relat. Luftfeuchtigkeit ca. 92%) nach 6—8 Tagen keine Trübung mehr zeigte. Somit wäre die zahlenmäßige Abnahme der mit Bact. proteus infizierten 4monatigen Käse wohl mit der Empfindlichkeit gegen Trockenheit zu erklären.

Noch eindeutiger bestimmt die zunehmende Trockenheit der Hartkäse das Auftreten des Bact. alcaligenes; denn dieses gegen Trockenheit äußerst empfindliche Stäbchen kommt auf älteren Käsen selten vor. Das außerordentlich seltene Auftreten von Bact. fluorescens war damit noch nicht geklärt. Daher wurden weitere Versuche angestellt, durch die festgestellt werden sollte, in welchem Maße das Wachstum der drei Bakterien von der Kochsalzkonzentration des Nährsubstrates abhängt.

c) Verhalten gegenüber Kochsalz.

3proz. Peptonagar als Stammnährboden wurde mit wechselnden Mengen chemisch reinen Kochsalzes versetzt und die auf Bouillonagar vorgezüchtete Kultur strichartig auf diesen Nährboden geimpft. Die Platten wurden bei 30° bebrütet und anschließend 5 Tage bei Zimmertemperatur aufgestellt (ca. 22° C). Nach dieser Zeit ergaben sich die in Tab. 2 und 2 a wiedergegebenen Befunde.

Tab. 2. Einfluß von NaCl auf das Wachstum.
(Zahlen geben den Durchmesser der Kolonie an.)

NaCl in %	Bact. proteus		Bact. fluorescens		Bact. alcaligenes	
	p_1	p_2	f_2	f_3	a_1	a_4
½	ganze Platte	ganze Platte	kräftig glänzend	kräftig grün	kräftig irisierend	kräftig irisierend
1	ganze Platte	ganze Platte	gut	kräftig grün	schwächer irisierend	kräftig irisierend
2	6 cm Ringbildung	7 cm	schwach	schwach	schwächer irisierend	noch gut
3	4 cm	4 cm	wenig Einzelkol.	wenig Einzelkol.	schwach irisierend	noch gut
5	kein Schwärmen	kein Schwärmen	kein Wachstum	kein Wachstum	Strich glatt	Strich glatt
7	kein Wachstum	wenig Einzelkol.	—	—	sehr schwach	sehr schwach
8,5	—	—	—	—	—	—
10	—	—	—	—	—	—
13	—	—	—	—	—	—
16	—	—	—	—	—	—
20	—	—	—	—	—	—

Tab. 2 a. Einfluß des NaCl auf das Schwärmen des Bact. proteus.

Stamm	3%	3,5%	4%	4,5%	5%
p_1	4 cm, Kolonien mit prächtiger Ringbildung	Ringbildung noch kräftig, Kolonien kleiner	Ring 1,2 cm, Randbildung wie Bact. alcaligenes	Kolonien spärlich, glatt	kein Schwärmen, Einzelkolonien
p_2	ganze Platte, überschwärmt	neben guter Ringbildung Einzelkol.	viele Einzelkolonien, wenig Schwärmen	noch geringes Schwärmen	nur Einzelkolonien

Bact. proteus stellte bei einem NaCl-Gehalt von 4,5% das Schwärmen und bei 8,5% das Wachstum völlig ein. Bact. alcaligenes

ähnelte in seiner Toleranz dem eben besprochenen. Das Schwärmen hörte bei einem NaCl-Gehalt von 5%, das Wachstum bei 8,5% auf.

Bact. fluorescens nahm eine Ausnahmestellung ein; denn schon 3% NaCl ließ nur noch spurenweise Wachstum zu. Diese außerordentlich hohe Empfindlichkeit gegen Kochsalz mag der Hauptgrund für das so seltene Auftreten von Bact. fluorescens auf dem Tilsiter Käse sein. Dies wird verständlich durch die Tatsache, daß der NaCl-Gehalt des Tilsiter Käses ca. 2,8% beträgt; in der Rinde erreicht er wahrscheinlich noch höhere Konzentrationen.

Wenn auch die p_H-, Trockenheits- und Kochsalzverhältnisse das Vorkommen des Bact. proteus, fluorescens und alcaligenes weitgehend bestimmen, so soll damit nicht behauptet werden, daß diese drei Faktoren allein hierfür ausschlaggebend sind, vermutlich sind sie hierbei aber besonders entscheidend.

Nebenher wurde der Salzeinfluß auf die Bakterien mikroskopisch beobachtet.

3% NaCl erzeugten bei Stamm p_2 meist bis 7 μ lange Formen, die noch außerordentlich rasch beweglich waren. Bei 7% NaCl-Gehalt wurden häufig dicke, aufgedunsene, bananenförmige Zellen beobachtet, jedoch zeigten diese keine Bewegung mehr; schon von 5% NaCl an ließ diese erheblich nach. Bact. alcaligenes erwies sich als noch empfindlicher; hier setzte schon bei 2% NaCl eine Lähmung der Bewegung ein. 7% ließen dicke, runde Formen entstehen, die keine Ähnlichkeit mehr mit der normalen Zellform hatten. Bei dieser Konzentration hatte die Bewegung völlig aufgehört. Den größten Einfluß hatte das Kochsalz scheinbar auch auf die Zellform des Bact. fluorescens; während ½% NaCl die Bewegung offenbar beschleunigte, setzte bei Stamm f_3 schon bei 1% Bewegungshemmung ein; völlige Lähmung der Bewegung der Zellen wurde bei 3% beobachtet. Ebenso reagierte das Bact. fluorescens mit Formenänderung; denn schon eine 2proz. Konzentration bewirkte längere Zellen, ja bei Stamm f_2 bildeten sich bis 11 μ lange Formen auf 3% NaCl enthaltendem Agar aus, bei f_3 hingegen krumme, dicke, weniger lange Formen.

IV. Wie verhalten sich diese Bakterien in Milch und Käse unter verschiedenen Bedingungen?

Da das Vorkommen dieser drei säureempfindlichen Arten — wie es sich gezeigt hat — scheinbar weitgehend abhängig ist von der Gegenwart von Milchsäurebakterien, wurde diese Abhängigkeit unter weitgehender Variierung der Versuchsbedingungen genauer untersucht. Zunächst erfolgten Untersuchungen über das Wachstum von Bact. proteus, fluorescens und alcaligenes in Reinkulturen, alsdann über das Verhalten bei Symbiose mit Milchsäurebakterien in Milch bei 3—5, 10, 15 und 20° und in Käschen verschiedenen Alters. Diese Verhältnisse sind teilweise von Luxwolda (33) untersucht worden; soweit sie in den Rahmen vorliegender Arbeit gehören, wurden sie überprüft und in kürzester Form wiedergegeben.

a) Verhalten in Milch.

1. Methodik.

Verwendet wurde auf Literkolben gefüllte, an 3 Tagen je ½ Std. im Dampftopf sterilisierte Magermilch. Die Versuche in frischer Milch anzustellen, wäre das Natürlichste gewesen; da jedoch selbst möglichst aseptisch aufgefangene Milch bei einer Verdünnung von 1 : 100—1 : 1000 noch Wachstum zeigte (Euterflora), hätte sich bei einer wochenlangen Bebrütung, wie sie die Versuche erforderten, eine Flora entwickelt, die die zu untersuchenden Bakterien weitgehend beeinflußt haben würde. Da durch das ständige Probenehmen eine große Infektionsgefahr bestand, wurden zu diesem Zwecke Spritzflaschen benutzt, deren Mundstück gegen die Außenluft mit einem Wattebausch,

und deren Ausflußröhrchen durch ein überragendes Glasrohr geschützt waren. Die Kolben wurden samt Inhalt sterilisiert. So wurden günstige Versuchsbedingungen geschaffen; wiederholte Kontrollen ergaben, daß von insgesamt 24 Versuchen nur in einem (Bact. proteus und Milchsäurebakterien bei 10°) eine Sekundärinfektion eingetreten war. Verwendet wurde eine 18stünd. Milchsäurebakterienkultur, die in Milch vorgezüchtet war. Die jeweiligen Bakterienkulturen wurden nach 24stünd. Bebrütung in Milch verwendet.

Die Ermittlung der Wachstumszunahme bzw. -abnahme geschah nicht mittels Keimzählungen, sondern durch Titerbestimmungen. Wenn dieses Verfahren hinter der Kochschen Plattenmethode in seiner Genauigkeit etwas zurücksteht, so beanspruchen die Keimzählungen doch erheblich mehr Zeit und Material. Bei den Versuchen kam es ja auch weniger auf Feststellung absoluter Keimzahlen, als auf die Ermittlung der Verschiebung des Wachstumsverhältnisses der Bakterien an.

Als Titerselektivnährlösungen wurden das 3proz. Peptonwasser für Bact. proteus, fluorescens und alcaligenes und mit Paraffin überschichtete Lackmusmilch für die Milchsäurebakterien gewählt. Nach der Methode von Demeter wurde die zu untersuchende Milch verdünnt und in die Röhrchen gebracht. Die Peptonwasserröhrchen wurden bei 30°, die Milchröhrchen bei 37° bebrütet. Eine Trübung bzw. Dicklegung, Reduktion und Rötung zeigten Wachstum an. Nachstehende Aufstellung rechtfertigte die Wahl obengenannter Selektivnährböden. Nebenher wurden die S.-H.-Grade sowie das p_H bestimmt. (Elektrometrische Methode mittels der Chinhydronelektrode).

	Bact. proteus, fluorescens, alcaligenes (je allein)	Milchsäurebakterien
3proz. Peptonwasser bei 30°	Nach 24 Stunden: starke Trübung	Erst nach 4 Tagen geringer Bodensatz, keine Trübung
Lackmusmilch mit Paraffin bei 37°	Veränderung durch: B. proteus nach 40 Std. B. fluorescens } noch B. alcaligenes } später	Nach 24 Stunden: Dicklegung Reduktion Rotfärbung

2. Verhalten in Reinkultur.

Bact. proteus (p_1). **20°.** Zweifellos ging die Vermehrung des Bact. proteus bei 20° am schnellsten vor sich; denn bereits am 3. Tage war bei einer Verdünnung von 10^{-9} noch Wachstum festzustellen. Schon am Ende des 1. Tages verfärbte sich die Milch bräunlich und nach 2 Tagen setzte die Proteolyse ein. Über 10^{-9} stieg der Titerwert auch an späteren Tagen nicht hinaus.

15°. Bei 15° begann die Proteolyse erst am 4. Tag und der entsprechende Titerwert war 10^{-7}. Die Vermehrung war langsamer als bei 20°; denn erst nach 6 Tagen zeigte die Verdünnung 10^{-8} noch Wachstum. Immerhin war die Vermehrungsgeschwindigkeit bei dieser Käsekellertemperatur sehr bedeutend.

10°. Auch bei dieser Temperatur war das Wachstum noch gut, wenn auch langsamer; erst am 10. Tage trat eine Trübung der 10^{-7}-Peptonlösung ein. Nach etwa 20 Tagen begann die Proteolyse.

3—5°. Bei dieser Temperatur fand eine Vermehrung nicht mehr statt. Proteolyse konnte während der Beobachtungszeit nicht mehr festgestellt werden, wohl aber eine beginnende Verfärbung nach 2 Wochen. Nach dieser Zeit zeigte die Verdünnung 10^{-4} noch Wachstum an.

Bact. fluorescens (f_1). Bact. fluorescens verhält sich grundsätzlich anders. Wenn auch bei 20 und 15° ähnliche Wachstums-

verhältnisse herrschten wie bei Bact. proteus, so begann der Unterschied bereits bei 10° und vergrößerte sich bei noch niederen Temperaturen. Während das Wachstum des Bact. proteus bei 3—5° nahezu stillstand, vermochte Bact. fluorescens nach 6 Tagen noch in einer Verdünnung von 10^{-5}, nach 10 Tagen noch bei 10^{-8} zu wachsen. Später folgende Bestimmungen zeigten, daß der Wachstumstiter 10^{-8} gleichblieb. Es muß daher an dieser Stelle auf die erwähnenswerte Tatsache hingewiesen werden, daß eine einfache Temperatursenkung unter 10° das Wachstum des Bact. fluorescens noch nicht zum Stillstand bringt.

Bact. alcaligenes (a_1). Ähnlich wie bei Bact. fluorescens, so überraschten auch die Wachstumsverhältnisse des Bact. alcaligenes in Milch. Bei 20° (Tab. 3 a) wurde bereits nach 3 Tagen der Titer 10^{-8} erreicht, um sich sogar nach 10 Tagen auf 10^{-9} zu steigern. Die S.-H.-° sanken vom 1. bis zum 25. Tage von 7,4—5,0; der p_H stieg von 6,35 auf 6,95 an. Die Milch war äußerlich bis auf eine schwache Gelbfärbung unverändert.

Tab. 3 a. Bact. alcaligenes in Milch bei 20°.

Zeit	Titer	S.-H.°	pH
Anfang	10^{-5}	7,4	6,35
Nach 6 Stunden	10^{-6}	7,4	6,35
„ 1 × 24 Std. . . .	10^{-6}	7,4	6,35
„ 3 × 24 „	10^{-8}	7,4	6,45
„ 5 × 24 „ . . .	10^{-8}	7,2	6,45
„ 7 × 24 „ . . .	10^{-8}	7,2	6,55
„ 10 × 24 „ . . .	10^{-9}	6,8	6,70
„ 13 × 24 „ . . .	10^{-9}	6,2	6,87
„ 14 × 24 „ . . .	10^{-9}	5,6	6,96
„ 16 × 24 „ . . .	10^{-9}	5,0	7,10
„ 20 × 24 „ . . .	10^{-9}	4,8	7,10
„ 22 × 24 „ . . .	10^{-8}	4,8	7,00
„ 25 × 24 „ . . .	10^{-9}	5,0	6,95

Tab. 3 b. Bact. alcaligenes in Milch bei 15°.

Zeit	Titer	S.-H.°	pH
Anfang	10^{-4}	7,8	6,40
Nach 6 Stunden	10^{-4}	7,8	6,50
„ 1 × 24 Std. . . .	10^{-6}	7,6	6,38
„ 2 × 24 „ . . .	10^{-6}	7,6	6,40
„ 4 × 24 „ . . .	10^{-7}	7,4	6,45
„ 6 × 24 „ . . .	10^{-8}	7,4	6,45
„ 8 × 24 „ . . .	10^{-8}	7,4	6,52
„ 11 × 24 „ . . .	10^{-9}	7,2	6,60
„ 13 × 24 „ . . .	10^{-9}	7,0	6,80
„ 19 × 24 „ . . .	10^{-9}	5,6	6,87
„ 22 × 24 „ . . .	10^{-9}	5,2	6,90
„ 25 × 24 „ . . .	10^{-9}	4,6	6,97
„ 28 × 24 „ . . .	10^{-9}	4,0	7,32

Nach 4 Monaten roch (p_H 6,5) die Milch karbolartig, was wahrscheinlich auf die fettspaltende Tätigkeit des Bakteriums zurückzuführen ist. Nur

Tab. 3c. Bact. alcaligenes in Milch bei 10°.

Zeit	Titer	S.-H.°	pH
Anfang	10^{-5}	7,4	6,35
Nach 6 Stunden	10^{-5}	7,4	6,35
„ 1 × 24 Std. . . .	10^{-6}	7,8	6,40
„ 3 × 24 „ . . .	10^{-6}	7,9	6,45
„ 5 × 24 „ . . .	10^{-6}	8,0	6,35
„ 7 × 24 „ . . .	10^{-7}	8,0	6,50
„ 10 × 24 „ . . .	10^{-7}	8,1	6,48
„ 13 × 24 „ . . .	10^{-8}	7,8	6,50
„ 16 × 24 „ . . .	10^{-8}	7,8	6,56
„ 19 × 24 „ . . .	10^{-8}	7,6	6,50
„ 23 × 24 „ . . .	10^{-8}	7,6	6,60
„ 26 × 24 „ . . .	10^{-8}	7,0	6,75

Tab. 3d. Bact. alcaligenes in Milch bei 3—5°.

Zeit	Titer	S.-H.°	pH
Anfang	10^{-5}	7,4	6,35
Nach 6 Stunden	10^{-4}	7,4	6,35
„ 1 × 24 Std. . . .	10^{-5}	7,8	6,35
„ 3 × 24 „ . . .	10^{-5}	8,0	6,40
„ 5 × 24 „ . . .	10^{-5}	8,0	6,40
„ 7 × 24 „ . . .	10^{-5}	8,0	6,25
„ 10 × 24 „ . . .	10^{-6}	7,9	6,35
„ 13 × 24 „ . . .	10^{-7}	7,7	6,40
„ 16 × 24 „ . . .	10^{-7}	7,6	6,46
„ 19 × 24 „ . . .	10^{-7}	7,4	6,55
„ 23 × 24 „ . . .	10^{-7}	7,4	6,50
„ 26 × 24 „ . . .	10^{-8}	7,2	6,54
„ 32 × 24 „ . . .	10^{-8}	6,8	6,70

wenig geringer war die Vermehrung bei 15° (Tab. 3 b). Es wurden jeweils nur wenige Tage später dieselben Keimzahlen gefunden.

10 und 3—5° (Tab. 3 c und d) ließen ebenfalls noch Wachstum zu. Wenn auch der Alkaligehalt nur wenig zunahm (p_H bei 10° von 6,35 auf 6,75; bei 3—5° von 6,35 auf 6,7), so konnte immerhin bei ca. 4° noch am 26. Tage bei 10^{-8} Trübung des Peptonwassers festgestellt werden.

Aus diesen Versuchen, die in Reinkultur der drei Bakterien angestellt wurden, geht hervor, daß eine Kühlung unter 10° Stillstand im Wachstum von Bact. proteus zur Folge hatte, nicht aber von Bact. fluorescens und alcaligenes, die selbst bei 3—5° C noch lebhafte Entwicklung zeigten. Wie das Ergebnis ausfallen wird, wenn diese Bakterien dem Konkurrenzkampf mit Milchsäurebakterien überlassen, wenn also annähernd natürliche Bedingungen geschaffen werden, lehren die folgenden Versuche.

3. Verhalten in Symbiose mit Milchsäurebakterien.

Bact. proteus (p_1) mit Milchsäurebakterien. Bei 20° war die „Konkurrenz" der Milchsäurebakterien derart stark, daß eine deutliche Hemmung im Wachstum von Bact. proteus erkenntlich wurde

Bei 15° entschied sich dieser Kampf erst mit dem 5. Tage, an dem von den Milchsäurebakterien der Titer 10^{-8} erreicht wurde, während Bact. proteus von 10^{-7} auf 10^{-6} sank. In dem sauren Nährboden konnte das recht säureempfindliche Bact. proteus nicht mehr wachsen, es starb ab. Die Milch war dickgelegt, Proteolyse trat nicht ein. Geschmack und Geruch waren bei 20° durchaus angenehm säuerlich. Schwerer wurde dieser Kampf für die Milchsäurebakterien bei 10°; denn die Versuche ergaben, daß die anfänglich gleichen Keimzahlen (Titer 10^{-3}) sich im Laufe des Wachstums dahin verschoben, daß sich Bact. proteus vom 7.—14. Tage (10^{-6} bis 10^{-8}) stärker durchsetzte als die Milchsäurebakterien zu gleicher Zeit (10^{-5} bis 10^{-6}). Dennoch trat nach dem 14. Tage eine eindeutige Verschiebung der Keimzahlen zugunsten der Milchsäurebakterien ein. Immerhin dürfte der Einfluß des Bact. proteus bei 10° nicht übersehen werden. Niedere Temperaturen (3—5°) hemmten beide Bakterien stark in ihrem Wachstum. Nach 27 Tagen war die Milch äußerlich noch unverändert.

Diesen Versuchen konnte entnommen werden, daß sich die Milchsäurebakterien im Zusammenleben mit Bact. proteus meist durchsetzten, daß letzteres jedoch den Milchsäurebakterien bei 10° nur ganz knapp unterlag. Bei Käsekellertemperatur (15°) war diese Gefahr nicht so groß. Jedoch wäre im gegebenen Falle bei geringen Änderungen der Bedingungen zugunsten des Bact. proteus (Temperatur, Luftfeuchtigkeit, Sauerstoffzutritt) eine Proteusfäulnis sehr wohl denkbar.

Bact. fluorescens (f_1) mit Milchsäurebakterien. In Mischkultur bei 20° wuchsen Bact. fluorescens und die Milchsäurebakterien sehr gut. Wenn auch die Schnelligkeit der Keimzahlzunahme des Bact. fluorescens nach dem 1. Tage abnahm, so fiel doch das verhältnismäßig gute Wachstum gerade von Bact. fluorescens bei ziemlich hohem Säuregrad auf. Bereits nach 2 Tagen war die Milch dickgelegt. Die S.-H.° betrugen nach dieser Zeit 33,6; $p_H = 4{,}25$.

Bei 15° überwucherten die Milchsäurebakterien das Bact. fluorescens auch sehr rasch: Es konnte nach 6 Tagen noch Milchsäurebakterienwachstum bei 10^{-9}, ein Fluorescens-Wachstum bei 10^{-6} festgestellt werden. Nach dieser Zeit war die Milch geronnen. Die außerordentliche Wachstumsbeschleunigung der Milchsäurebakterien war auffallend, da sie bei 20° nicht in dem Maße beobachtet wurde. Möglich ist, daß zu dem Zeitpunkt, an dem die Milchsäurebakterien den Milchzucker aufgezehrt haben, diese bei einer Symbiose mit peptonisierenden Bakterien sich von deren Eiweißderivaten, weiter ernähren können, da diese leichter assimilierbar sind als das Eiweiß selbst. Es soll nicht gesagt werden, daß eine Symbiose mit Bact. fluorescens fördernd auf das Wachstum der Milchsäurebakterien einwirkt, jedenfalls wird ihnen die Existenz bei höheren Säuregraden erleichtert.

Am 16. Tage war das Titerverhältnis:

Milchsäurebakterien: 10^{-9};
Bact. fluorescens: 10^{-5};
S.-H.° = 40,4; $p_H = 4{,}1$.

Bei 10° trat der Umschwung ein. An keinem Tage konnte ein Überwiegen der Milchsäurebakterien festgestellt werden. Schon am 2. Tage entschied sich der Kampf für Bact. fluorescens. Nach 3 Monaten war die gesamte Milch unter Grünfärbung peptonisiert.

Eine weitere Temperatursenkung auf 3—5° war für Bact. fluorescens günstig. Das Bild war noch eindeutiger, denn die Milchsäure-

bakterien wuchsen nach anfänglichem Absinken ihrer Keimzahlen am 20. Tage nur noch bei dem Titer 10^{-5}, während Bact. fluorescens zur gleichen Zeit Peptonwasser in der Verdünnung 10^{-9} trübte. S.-H.° = 10,6; p_H = 6,02. Zu dieser Zeit war die Milch noch grünlich verfärbt.

Welche Produkte der Milchsäurebakterien hemmend auf das Wachstum des Bact. fluorescens einwirkten, schien nicht geklärt zu sein; sicherlich wird die Milchsäure ihren Anteil daran haben. Es kann wohl angenommen werden, daß Bact. fluorescens seinen Sieg über die Milchsäurebakterien bei niederen Temperaturen einem Komplex von Umständen verdankt, bei dem scheinbar die weitgehende Unempfindlichkeit des Bact. fluorescens gegen Säure sowie die Fähigkeit, niedrige Temperaturen zu ertragen, den größten Anteil haben.

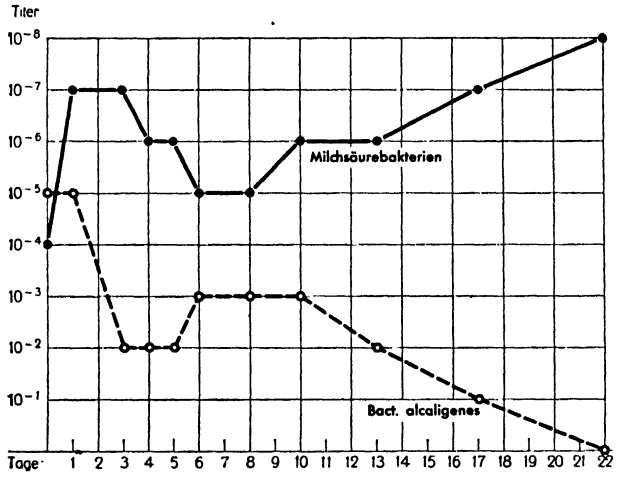


Abb. 4. Symbiose in Milch bei 15° C.

Bact. alcaligenes mit Milchsäurebakterien (siehe Tab. 4 a—d; Abb. 3—6). Bact. alcaligenes erwies sich bei der Symbiose mit Milchsäurebakterien, wie folgende Versuche zeigen, wohl als das empfindlichste Bakterium von den drei besprochenen. Der Wachstumstest der Milchsäurebakterien stieg bei 20° (Tab. 4 a) schon nach 24 Std. von 10^{-5} auf 10^{-10}; dieser starken Übersäuerung — die S.-H.° waren vom 1. bis zum 2. Tage von 8,5 auf 36,0, p_H von 6,35 auf 4,20 gestiegen — vermochte Bact. alcaligenes nicht standzuhalten. Zu dieser Zeit war die Milch bereits dickgelegt. Schon nach 6 Tagen zeigte das Peptonwasser in keiner Verdünnung eine Trübung mehr. Der Geruch und der Geschmack waren zu allen Zeiten angenehm säuerlich.

Tab. 4 a. Bact. alcaligenes und Milchsäurebakterien in Milch bei 20°.

Zeit	Milchsäure-bakterien	B. alcal.	S.-H.°	p_H
Anfang	10^{-5}	10^{-6}	8,5	6,35
Nach 1 × 24 Std. . . .	10^{-10}	10^{-4}	36,0	4,20[1])
„ 3 × 24 „ . . .	10^{-6}	10^{-2}	40,0	4,17
„ 4 × 24 „ . . .	10^{-7}	10^{-2}	40,0	4,12
„ 5 × 24 „ . . .	10^{-7}	10^{-1}	40,4	4,10
„ 6 × 24 „ . . .	10^{-8}	—	40,4	4,10
„ 8 × 24 „ . . .	10^{-7}	—	40,8	4,10
„ 10 × 24 „ . . .	10^{-7}	—	40,8	4,10
„ 13 × 24 „ . . .	10^{-6}	—	41,0	4,07
„ 17 × 24 „ . . .	10^{-6}	—	41,05	4,03
„ 22 × 24 „ . . .	10^{-6}	—	41,0	4,05

[1]) Milch ist dickgelegt.

Tab. 4 b. Bact. alcaligenes und Milchsäurebakterien in Milch bei 15°.

Zeit	Milchsäure-bakterien	Bact. alcal.	S.-H.°	pH
Anfang	10^{-4}	10^{-5}	8,5	6,35
Nach 1 × 24 Std. . . .	10^{-7}	10^{-5}	22,0	4,88
„ 3 × 24 „ . . .	10^{-7}	10^{-2}	37,5	4,20[1])
„ 4 × 24 „ . . .	10^{-6}	10^{-2}	40,0	4,12
„ 5 × 24 „ . . .	10^{-6}	10^{-2}	37,2	4,10
„ 6 × 24 „ . . .	10^{-5}	10^{-3}	40,0	4,10
„ 8 × 24 „ . . .	10^{-5}	10^{-3}	39,2	4,17
„ 10 × 24 „ . . .	10^{-6}	10^{-3}	38,0	4,20
„ 13 × 24 „ . . .	10^{-6}	10^{-2}	40,2	4,13
„ 17 × 24 „ . . .	10^{-7}	10^{-1}	40,0	4,17
„ 22 × 24 „ . . .	10^{-8}	—	40,4	4,12

[1]) Milch ist dickgelegt.

15° (Tab. 4 b) schien dem Bact. alcaligenes willkommener zu sein. Wenn auch am 3. Tage nur noch der Titer in der 10^{-2}-Verdünnung Wachstum anzeigte, so war das Bact. alcaligenes immer noch fähig, bis zum 6. Tage eine Vermehrung eintreten zu lassen (10^{-3}) ,wobei die Milchsäurebakterien offensichtlich starke Abnahme erdulden mußten (von 10^{-7} auf 10^{-5}). Jedoch vom 10. Tage ab setzte eine ungehemmte Vermehrung der Säurebildner ein, die das alkalibildende Stäbchen bis zum 22. Tage völlig zu verdrängen vermochten. Am 3. Tage war die Milch dickgelegt. S.-H.° am 22. Tage = 40,4; p_H = 4,12. Nach 3 Monaten betrug das p_H = 3,85. Der Geruch und der Geschmack waren scharf bis bitter säuerlich.

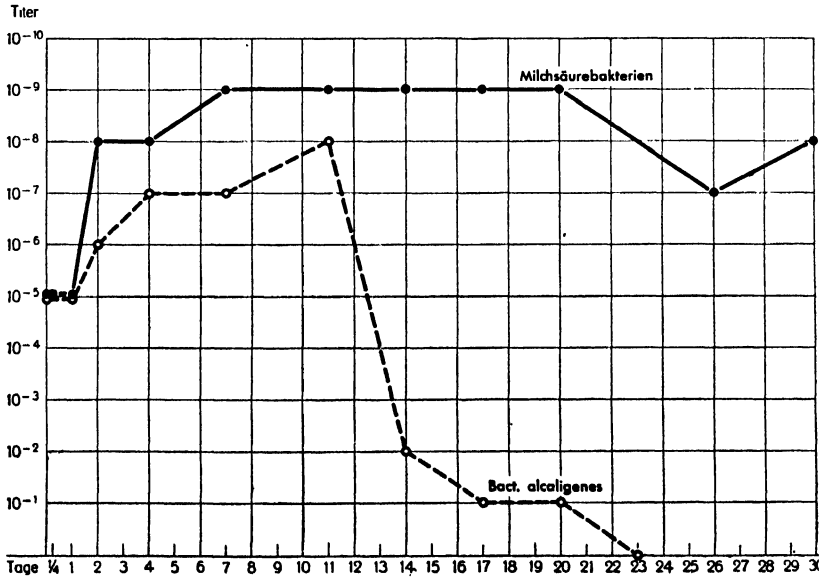


Abb. 5. Symbiose in Milch bei 10° C.

Tab. 4c. Bact. alcaligenes und Milchsäurebakterien in Milch bei 10°.

Zeit	Milchsäure-bakterien	Bact. alcal.	S.-H.°	pH
Anfang	10^{-5}	10^{-5}	7,2	6,40
Nach 6 Stunden	10^{-5}	10^{-5}	7,3	6,35
„ 1 × 24 Std. . . .	10^{-5}	10^{-5}	7,2	6,40
„ 2 × 24 „ . . .	10^{-6}	10^{-6}	7,2	6,30
„ 4 × 24 „ . . .	10^{-8}	10^{-7}	13,6	5,50
„ 7 × 24 „ . . .	10^{-9}	10^{-7}	26,0	4,50[1])
„ 11 × 24 „ . . .	10^{-9}	10^{-8}	28,8	4,25
„ 14 × 24 „ . . .	10^{-9}	10^{-2}	29,2	4,25
„ 17 × 24 „ . . .	10^{-9}	10^{-1}	29,2	4,30
„ 20 × 24 „ . . .	10^{-9}	10^{-1}	30,8	4,25
„ 23 × 24 „ . . .	10^{-9}	(10^{-1})	30,0	4,30
„ 26 × 24 „ . . .	10^{-7}	(10^{-1})	30,0	4,25
„ 30 × 24 „ . . .	10^{-8}	(10^{-1})	30,4	4,35

[1]) Milch ist dickgelegt.

Den Gipfelpunkt der Entwicklung schien das Bact. alcaligenes bei 10° (Tab. 4 c) zu erreichen, denn nach 11 Tagen konnte es noch die Verdünnung 10^{-8} trüben. Es wurde jedoch nicht die Wachstumskurve der Säurebildner erreicht. Bis zum 20. Tage erfolgte darauf steiler Abfall der Wachstumskurve des Bact. alcaligenes. Am 7. Tage wurde die Milch dickgelegt. Bis zu diesem Tage war der Geschmack seifig (S.-H.° = 26). Die Milch war bräunlich verfärbt. Das Ergebnis der Sinnenprüfung war „unangenehm säuerlich".

Bei 3—5° (Tab. 4 d) wurde in den ersten 24 Std. starker Abfall des Wachstums des Bact. alcaligenes festgestellt. Bis zum Ende des Versuches (26. Tag) konnte es noch die Verdünnung 10^{-2} trüben. Diese Tatsache schien für die Milchsäurebakterien günstig zu sein; denn vom 4. bis zum 11. Tage konnten diese sich immerhin vermehren (von 10^{-4} auf 10^{-6}).

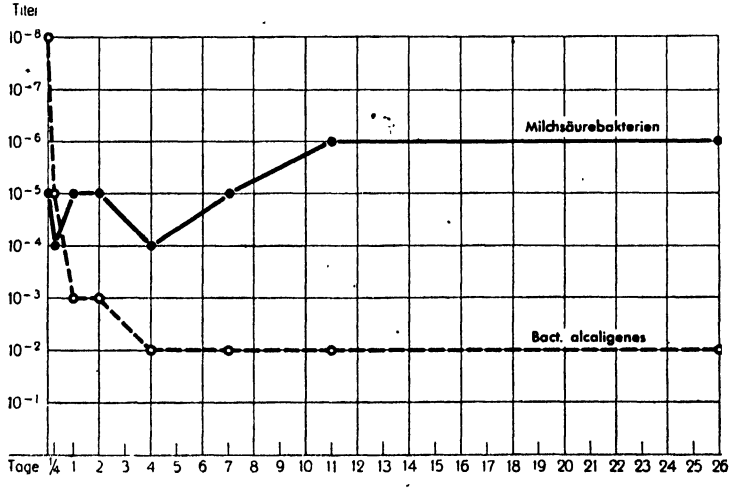


Abb. 6. Symbiose in Milch bei 3—5° C.

Tab. 4 d. Bact. alcaligenes und Milchsäurebakterien in Milch bei 3—5°.

Zeit	Milchsäure-bakterien	Bact. alcal.	S.-H.°	pH
Anfang	10^{-5}	10^{-8}	7,4	6,55
Nach 6 Stunden . . .	10^{-4}	10^{-5}	7,4	6,55
„ 1 × 24 Std. . . .	10^{-5}	10^{-3}	8,9	6,40
„ 2 × 24 „ . . .	10^{-5}	10^{-3}	7,8	6,45
„ 4 × 24 „ . . .	10^{-4}	10^{-2}	8,0	6,10
„ 7 × 24 „ . . .	10^{-5}	10^{-2}	8,0	6,25
„ 11 × 24 „ . . .	10^{-6}	10^{-2}	8,2	6,20
„ 16 × 24 „ . . .	10^{-6}	10^{-2}	8,4	6,20
„ 21 × 24 „ . . .	10^{-6}	(10^{-2})	8,4	6,15
„ 26 × 24 „ . . .	10^{-6}	10^{-2}	9,2	6,05

Diese Versuche ergaben also, daß das alkalibildende Stäbchen außerordentlich empfindlich gegen die Stoffwechselprodukte der Milchsäurebakterien war, und daß wahrscheinlich die Milchsäure hierbei die entscheidende Rolle spielt. Niedere Temperaturen begünstigten das Wachstum des Bact. alcaligenes insofern, als diese für die ausgesprochenen thermophilen Milchsäurebildner äußerst ungünstig sind. Jedenfalls war die Widerstandskraft des Alkalibildners bei 10° am größten, und es wäre denkbar, daß bei für Bact. alcaligenes optimalen Bedingungen dieser den Milchsäurebakterien zum ernstlichen Konkurrenten wird.

Um natürlichen Bedingungen in bezug auf Temperatur, Luftsauerstoff und Luftfeuchtigkeit auf dem Käse einigermaßen zu entsprechen, wurden nachfolgende Käsungsversuche angestellt.

b) Verhalten dieser Bakterien in Käschen.

1. Labkäschen.

Zu diesen Versuchen wurden kleine Labkäschen in 500-ccm-Erlenmeyerkolben hergestellt. Diese wurden an 3 aufeinanderfolgenden Tagen jeweils ½ Std. im Dampftopf sterilisiert. Am 3. Tage wurde die Hauptmenge der Molke unter sterilen Bedingungen abgegossen. Ein Rest der Molke verblieb zwecks Verhinderung einer Austrocknung im Kolben.

Von frischen Kulturen der Bakterien wurde wenig Material auf die Kuppe der Käschen gebracht und bei Zimmertemperatur bebrütet. Bereits nach 24 Std. begann die Auflösung durch Bact. proteus, nach 2—3 Tagen durch Bact. fluorescens; dieses unter Grünfärbung, jenes unter Braunfärbung der Käschen. Die mit Bact. alcaligenes beimpften Käschen zeigten äußerlich außer einer schwachen Gelbfärbung keine auffällige Veränderung. Ein Schnitt durch die Käschen zeigte jedoch, daß sich die Außenschicht glasig von dem lockeren Gefüge des Kerns unterschied. Scheinbar wird hiernach das dnrch Lab ausgefällte Kasein von Bact. proteus und Bact. fluorescens sehr leicht, von Bact. alcaligenes jedoch schwer angegriffen.

Wenn auch über die chemische Struktur des Kaseinogens (Kasein) und des Kaseins (Parakasein) noch Unklarheit herrscht, so ist die größte Zahl der Forscher nach Abderhalden der Meinung, daß das Labferment, Chymosin genannt, das Kaseinogen in (2 Moleküle?) Kasein spaltet. Hiernach wäre also das Kasein tatsächlich leichter angreifbar.

2. Weichkäse.

A. Methodik.

Nach diesen orientierenden Vorversuchen wurde zur Herstellung von Weichkäsen aus Magermilch übergegangen. Diese geschah nach dem üblichen Verfahren mit dem Unterschied, daß die ½ Std. auf 63° erhitzte Milch kurz vor dem Einlaben beimpft wurde. Es wurden folgende Einsaatmengen verwandt:

B. prot.	B. fluor.	B. alcal.	B. prot.	Msbkt.	B. fluor.	Msbkt.	B. alcal.	Msbkt.
0,3	0,4	1,0	0,7	0,2	1,0	0,2	1,0	0,2

(Die Zahlen geben die Einsaatmengen in Prozenten an.)

Die Käschen wurden nicht im Reifungskasten bebrütet, sondern im Käsekeller der Lehrmolkerei, weniger wegen der größeren Temperaturkonstanz als der besseren Feuchtigkeitsverhältnisse.

Bald nach Fertigstellung der Käschen wurden diese mit steriler, gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, was von Zeit zu Zeit wiederholt wurde. Bei jeder der 6 Serien wurden je 6 Käschen hergestellt, von denen je eines am 1., 4., 8., 21. und 33. Tage auf Beschaffenheit und Keimgehalt (Titerbestimmung) hin untersucht wurde.

Versuche von Lembke (30) mit Oospora hatten gezeigt, daß eine einfache Zerreibung der Käsemasse nicht genügte, um die Zahl der darin befindlichen Bakterien zu erfassen. Diese waren z. T. noch im Eiweiß fest eingeschlossen. Lembke hat daher vorgeschlagen, das Kasein in einer Mischung von n/10 NaOH und n/10 Na_2CO_3 im Verhältnis 1 : 1 zu lösen. Da zur Lösung des Kaseins sein Quellungsoptimum nach Boysen (7) bei p_H 7,0 erreicht werden mußte, war es nötig, die jeweilige Menge Alkali zu bestimmen, die zur Erreichung dieses p_H notwendig war. Zu diesem Zwecke wurden zweimal je 1 g der Käsemasse genau abgewogen. Eine von ihnen wurde zur Feststellung der nötigen Alkalimenge mit Neutralrot als Indikator titriert. Die somit ermittelte Menge Alkali wurde zu dem 2. g hinzugegeben und innig mit dem Käse verrieben. Jetzt konnte die Titerbestimmung erfolgen. Daß die vorherige Lösung des Kaseins nötig ist, zeigte Lembke, indem er feststellte, daß die auf diese Art erhaltenen Keimzahlen aus Sauermilchquarg um das 2—3fache höher lagen als die einer einfachen Suspension des Quargs in Wasser.

Da besonders die Verhältnisse an der Oberfläche der Käse interessierten, wurden von jedem Käse 2 Titerbestimmungen gemacht; eine Probe wurde dem Kern, eine andere der Oberfläche der Käse entnommen. Eine Käseserie (Bact. alcaligenes mit Milchsäurebakterien) wurde außerdem auf ihren Wassergehalt hin untersucht. Dieses geschah nach den üblichen Methoden unter Trocknung mit Seesand bei 110° bis zur Gewichtskonstanz. Da sämtliche Käseserien nach gleicher Art hergestellt und unter gleichen Bedingungen gelagert wurden, hielt man größere Abweichungen im Wassergehalt von dieser Versuchsserie für nicht wahrscheinlich.

B. Verhalten in Reinkulturen.

Bact. proteus (p_1) (siehe Tab. 5 a). Da die zu verarbeitende Milch bei 63° ½ Std. pasteurisiert wurde, war die natürliche Keimmenge im Verhältnis zu der Impfmenge mit Bact. proteus auf ein Minimum herabgedrückt. Dennoch schienen sich einige restliche Säurebildner an der anfangs sinkenden p_H-Zahl zu erkennen zu geben. Die Entwicklung der Proteusbakterien im Innern der Käse zeigte ein anderes Bild als auf der Oberfläche. Im Innern stand das Wachstum bis zum 8. Tage still, ja es nahm am 4. Tage sogar vorübergehend ab, selbst am 33. Tage wurde nur noch das Peptonwasser in der Verdünnung 10^{-7} getrübt. Die Entwicklung auf der Rinde ging dagegen rascher vor sich, und am 21. Tage zeigte der Titer 10^{-9} noch Wachstum an. Das p_H stieg außen von 6,1 auf 7,2, dagegen wurde im Innern nur ein p_H-Wert von 6,0 erreicht. Schon nach 6 Tagen begann die Rinde schmierig zu werden und am darauffolgenden Tage sogar abzulaufen. Ein

Schnitt, am 10. Tage durch den Käse gelegt, zeigte, daß der innere Kern, wenn auch bereits bräunlich gefärbt, immerhin noch feste Struktur hatte. Die Fäulnis schritt augenscheinlich von außen nach innen fort. Der Käse verbreitete einen widerlich ammoniakalischen Geruch.

Tab. 5a. Bact. proteus-Käse.

Tage	Außen		Innen	
	B. prot. (Titer)	pH	B. prot. (Titer)	pH
1.	10^{-5}	6,1	10^{-5}	6,3
4.	10^{-6}	5,9	10^{-4}	5,65
8.	10^{-6}	6,2	10^{-5}	5,2
14.	10^{-8}	6,45	10^{-6}	5,25
21.	10^{-9}	6,6	10^{-6}	5,73
33.	10^{-8}	7,2	10^{-7}	6,0

Tab. 5b. Bact. fluorescens-Käse.

Tage	Außen		Innen	
	Bact. fluor. (Titer)	pH	Bact. fluor. (Titer)	pH
1.	10^{-5}	6,3	10^{-5}	6,35
4.	10^{-6}	5,8	10^{-5}	5,75
8.	10^{-7}	5,85	10^{-6}	5,6
14.	10^{-5}	6,0	10^{-6}	5,8
21.	10^{-5}	6,2	10^{-7}	5,9
33.	10^{-4}	6,25	10^{-6}	5,95

Bact. fluorescens (f_1) (siehe Tab. 5b). Glaubte man bei den mit Bact. fluorescens beimpften Käsen zu ähnlichen Ergebnissen zu kommen, war man einem Fehlschluß erlegen; denn außen entwickelte es sich nur am Anfang stärker, sank darauf vom 3. Tage an zahlenmäßig sogar unter die Ausgangskeimzahl herab. Es blieb somit auf der Rinde, verglichen mit Bact. proteus, weit hinter diesem zurück. Innen zeigte am 21. Tag der Titer 10^{-7} noch Trübung an.

Auf der Rinde schien der Einfluß des Salzes maßgeblich einzugreifen. Am Schluß des Versuches war der ganze Käse durch und durch kräftig grün gefärbt und flach zusammengesunken; seine Konsistenz war schwammig, ohne daß wie bei Bact. proteus-Käsen eine Verflüssigung eingetreten wäre.

Tab. 5c. Bact. alcaligenes-Käse.

Tage	Außen		Innen	
	Bact. alcal. (Titer)	pH	Bact. alcal. (Titer)	pH
1.	10^{-5}	6,3	10^{-5}	6,35
4.	10^{-8}	6,45	10^{-6}	6,4
8.	10^{-9}	6,7	10^{-6}	6,4
14.	10^{-8}	6,95	10^{-5}	6,45
21.	10^{-7}	6,9	10^{-4}	6,5
33.	10^{-7}	6,85	10^{-4}	6,4

Bact. alcaligenes (a_1) (siehe Tab. 5c). Vom 1.—4. Tage stieg im Innern der mit Bact. alcaligenes beimpften Käse das Wachstum dieser Bakterien nur wenig an (von 10^{-5} auf 10^{-6}); am Ende des Versuches (33. Tag) ging der Titerwert sogar auf 10^{-4} zurück. Sein Maximum erreichte das Bakterium auf der Oberfläche am 8. Tage (10^{-9}), fiel jedoch zum Schluß des Versuches (33. Tag) etwas zurück (10^{-7}). Der äußere Befund der Käse ergab am 8. Tage folgendes Bild: Das Innere ($^4/_5$) war von sehr weicher Konsistenz; es schien durch die äußere, feste, glasige Randzone zusammengehalten zu werden. Der Geschmack war seifig, wofür offenbar das Fettspaltungsvermögen verantwortlich zu machen war. Zum Schluß des Versuches ging der Käse breit auseinander, ohne daß die geringste Spur des Ablaufens festgestellt werden konnte. Es lag nahe, anzunehmen, daß durch diese kernige Randschicht dem Organismus der Luftsauerstoff weitgehend entzogen wurde, wodurch eine Vermehrung im Innern nicht zustande kam.

Diesen Versuchen konnte als Ergebnis entnommen werden, daß Bact. proteus von den drei besprochenen Mikroorganismen am augenfälligsten in die Struktur des Eiweißes eingreift. Die mit Bact. fluorescens beimpften Käse wurden langsamer unter Grünfärbung angegriffen. Jedoch hinderte das Kochsalz das Bakterium an dem völligen Abbau des Kaseins. Am langsamsten unterlagen die Bact. alcaligenes-Käse einer Veränderung. Immerhin sei die von diesem Bakterium hervorgerufene Geschmacksveränderung hervorgehoben.

Hiernach können alle drei Mikroorganismen für die Milchwirtschaft schädlich sein.

C. Verhalten in Symbiose mit Milchsäurebakterien.

Die Käse wurden, wie oben beschrieben, bereitet, jedoch mit dem Unterschied, daß die zu verkäsende Milch außerdem mit einer 18stündigen Käsereifungskultur beimpft wurde (Streptococcus lactis, cremoris und Streptobact. casei).

Bact. proteus mit Milchsäurebakterien (siehe Tab. 6a). Die Anwesenheit von Milchsäurebakterien schien das Wachstum des Bact. proteus sowohl im Innern als auch auf der Oberfläche — jedenfalls anfangs — zu behindern. Denn eine Vermehrung fand im Inneren nicht statt; am 8. Tage wurde sogar ein Keimzahlrückgang festgestellt (von 10^{-5} auf 10^{-3}). Am 4. Tage ergab die Titerprobe ebenfalls auf der Rinde leichte Abnahme der Keimzahlen (von 10^{-6} auf 10^{-5}). In der Folgezeit konnte Bact. proteus sich jedoch jedenfalls außen rasch vermehren (am 33. Tag 10^{-8}). Das p_H sank im Innern von 5,9 auf 5,25 (4. Tag), ein Zeichen,

Tab. 6a. Bact. proteus und Milchsäurebakterien-Käse.

Tage	Außen			Innen		
	Bact. prot. (Titer)	Milchs.-Bakt. (Titer)	pH	Bact. prot. (Titer)	Milchs.-Bakt. (Titer)	pH
1.	10^{-6}	10^{-5}	6,1	10^{-5}	10^{-6}	5,9
4.	10^{-5}	10^{-6}	5,3	10^{-5}	10^{-7}	5,25
8.	10^{-6}	10^{-6}	5,7	10^{-3}	10^{-7}	4,9
14.	10^{-7}	10^{-5}	6,35	10^{-5}	10^{-8}	5,25
21.	10^{-8}	10^{-5}	6,3	10^{-6}	10^{-7}	5,34
33.	10^{-8}	10^{-6}	6,05	10^{-5}	10^{-7}	5,45

daß die Milchsäurebakterien ernstlich konkurrieren. Auch außen sank das p_H anfangs auf 5,3, und tatsächlich war das Wachstumsverhältnis am 4. Tage 10^{-5}: 10^{-6} für die Milchsäurebakterien. Dieses Bild änderte sich jedoch rasch, denn bereits am 21. Tage war auf der Rinde das Titerverhältnis zugunsten des Bact. proteus verschoben (10^{-8}: 10^{-5}). Dennoch wurde die Auflösung der Rinde durch die Milchsäurebakterien sichtlich verzögert; sie konnte erst vom 14. Tage ab beobachtet werden. Der Kern war bis zum Ende des Versuches durchaus fest, wenn auch gelblich verfärbt; an keinem Tage konnte hier Bact. proteus das Übergewicht erlangen. Der Geruch und der Geschmack waren unangenehm beißend.

Tab. 6 b. Bact. fluorescens und Milchsäurebakterien-Käse.

Tage	Außen			Innen		
	Bact. fluor. (Titer)	Milchs.-Bakt. (Titer)	pH	Bact. fluor. (Titer)	Milchs.-Bakt. (Titer)	pH
1.	10^{-5}	10^{-7}	6,4	10^{-4}	10^{-6}	6,45
4.	10^{-4}	10^{-5}	6,1	10^{-3}	10^{-7}	4,7
8.	10^{-2}	10^{-6}	5,9	10^{-4}	10^{-7}	4,8
14.	10^{-3}	10^{-6}	5,8	10^{-5}	10^{-7}	4,8
21.	10^{-4}	10^{-5}	5,95	10^{-5}	10^{-8}	4,25
33.	10^{-4}	10^{-5}	6,05	10^{-4}	10^{-8}	4,7

Bact. fluorescens mit Milchsäurebakterien (siehe Tab. 6 b). Auch bei dieser Käseserie zeigte sich eine verschiedene Entwicklung der Mikroorganismen im Innern und an der Oberfläche der Käse. Im Innern konnte sich Bact. fluorescens vorübergehend (14.—21. Tag) vermehren, am Schluß des Versuches wurden jedoch wiederum die Ausgangskeimzahlen gefunden.

In der Rinde sanken die Keimzahlen von Bact. fluorescens am 8. Tage stark herab (von 10^{-5} auf 10^{-2}); das Bakterium konnte sich jedoch bis zum 21. Tage noch wieder leicht vermehren (10^{-4}). Dieses Absinken der Keimzahlen auf der Oberfläche wurde in weniger starkem Maße schon bei den Reinkultur-Käsen von Bact. fluorescens beobachtet; hier wurde in Konkurrentschaft mit Milchsäurebakterien dieselbe Erscheinung bestätigt gefunden. Der Käse war bis auf einen kleinen, festen Kern von weicher Konsistenz. Die Farbintensität war nicht so groß wie bei den Reinkulturkäsen. Die Milchsäurebakterien konnten scheinbar eine schwache Entwicklung des Bact. fluorescens nicht verhindern. Lediglich auf der Oberfläche der Käse sanken die Keimzahlen dieses Bakteriums stark herab, was wohl auf seine außerordentlich große Salzempfindlichkeit zurückzuführen war.

Die Milchsäurebakterien als Antagonisten des Bact. fluorescens konnten hiernach erst in zweiter Linie genannt werden.

Bact. alcaligenes mit Milchsäurebakterien (siehe Tab. 6 c). Auch bei den Käsungsversuchen erwies sich das Bact. alcaligenes als das empfindlichste von den dreien in Symbiose mit den Milchsäurebakterien. Außen wie innen dominierten zum Schluß die Milchsäurebakterien. Innen schienen für das Bact. alcaligenes denkbar ungünstige Bedingungen zu herrschen, denn schon nach 8 Tagen war das Bak-

terium auf sein Wachstumsminimum gesunken (von 10^{-6} auf 10^{-3}). Am gleichen Tage erreichte es außen sein Maximum (10^{-10}), was das Wachstum der Milchsäurebakterien anzuregen schien; denn auch für sie wurde eine außerordentlich hohe Keimzahl festgestellt, die selbst bei anderen Käsen nicht erreicht wurde (10^{-8}). Später jedoch fiel Bact. alcaligenes stark ab und sank bis zum Ende des Versuches wie auch innen auf Titer 10^{-3}.

Die Käse hatten ihre Form behalten und zeigten im Innern gutes Gefüge. Die Rinde war von harter glasiger Struktur.

Tab. 6c. Bact. alcaligenes und Milchsäurebakterien-Käse.

Tage	Außen			Innen		
	Bact. alcal. (Titer)	Milchs.-Bakt. (Titer)	pH	Bact. alcal. (Titer)	Milchs.-Bakt. (Titer)	pH
1.	10^{-5}	10^{-5}	6,20	10^{-6}	10^{-6}	6,10
4.	10^{-7}	10^{-7}	6,25	10^{-5}	10^{-8}	5,20
8.	10^{-10}	10^{-8}	6,35	10^{-3}	10^{-10}	4,15
14.	10^{-6}	10^{-6}	6,00	10^{-3}	10^{-5}	4,10
21.	10^{-5}	10^{-6}	5,85	10^{-3}	10^{-6}	4,05
33.	10^{-3}	10^{-6}	5,45	10^{-3}	10^{-6}	4,10

Ergebnisse.

Bact. proteus konnte von der Rinde her nicht so rasch das Eiweiß zersetzen wie ohne Säurebildner; es traf im Innern sogar auf — in ihrer Menge sich annähernd konstant haltende — Säurebildner, die fähig waren, ein weiteres Vordringen durch Bact. proteus zu verhüten, sogar ein schwaches Absterben zu veranlassen. Die Haupttätigkeit der Milchsäurebildner schien bei Fluorescens-Milchsäurebakterien-Käsen sich auf ein Verhüten der Zunahme von Bact. fluorescens im Innern zu beschränken. Auf der Oberfläche fiel diese Aufgabe hauptsächlich dem Kochsalz zu. Bact. alcaligenes wurde offenbar durch Bildung einer festen Rindenzone, die scheinbar durch das Bakterium selbst gebildet wurde, an seiner eigenen Entwicklung im Innern gehindert, wodurch eine fast reine Milchsäurebakteriensäuerung im Kern bewirkt wurde.

D. Wassergehaltsbestimmungen.

Eine Versuchsreihe von Käsen wurde auf ihren Wassergehalt untersucht; und zwar wurde von jedem Käse die Rindenzone wie auch das Innere gesondert berücksichtigt. Nachfolgende Werte wurden ermittelt bei der Serie Bact. alcaligenes mit Milchsäurebakterien (die Zahlen geben Prozente Wasser an).

Wassergehalt (in Prozenten).

	1. Tag	4. Tag	8. Tag	14. Tag	21. Tag	33. Tag
Innen	68,76	64,27	63,71	61,95	60,04	59,43
Außen	65,35	61,83	59,17	58,34	57,72	57,10

V. Toxinbildung von Bact. proteus und Bact. alcaligenes.

Nachstehende Untersuchungen gehören nur insofern in den Rahmen dieser Arbeit, als es interessant ist, Aufschluß darüber zu erhalten, ob beim Genuß solcher infizierten Käse irgendwie schädliche Folgen auftreten können. Darüber hinaus sollen die Versuche ganz allgemein zur Frage nach der toxischen Wirkung, besonders des Bact. proteus und Bact. alcaligenes, einen Beitrag liefern.

Bei der Durchsicht der Literatur fiel besonders die Uneinigkeit auf, die über die Virulenz von Bact. proteus besteht. Auch über Bact. alcaligenes gehen die Ansichten auseinander. Oft hat man diese Bakterien aus Organen isolieren können, ohne irgendeine Erkrankung festgestellt zu haben. Andererseits werden oftmals Erkrankungen beschrieben — meist handelt es sich um proteusverdächtige, angezeigt durch Erbrechen, Schwindel mit leichten Temperatursteigerungen und nachträglich eintretenden Durchfällen — ohne daß verdächtige Bakterien vom Typ des Bact. proteus isoliert wurden. Lindemann (32) berichtet, daß er bei Cystitis Reinkulturen von Bact. alcaligenes isolieren konnte und nicht, wie die meisten annehmen, von Bact. proteus und coli. Derselbe Verfasser erwähnt Todesfälle, bei denen aus verschiedenen Organen Bact. alcaligenes gezüchtet werden konnte.

Immerhin sind genügend Erkrankungsfälle bekannt, für die — obwohl die verdächtigen Speisen sofort untersucht wurden — weder Bact. proteus noch Bact. alcaligenes einwandfrei verantwortlich gemacht werden konnte. Wahrscheinlich trat sofort nach Bildung größerer Mengen von Toxinen eine rasche Abtötung der Organismen durch die eigenen Stoffwechselprodukte ein. Hauser (16), der als erster eine toxische Wirkung des Bact. proteus nachwies, fand nach Einspritzung mit durch Bact. proteus verflüssigten Gelatine- und Leberkulturen niemals eine Vermehrung der Bakterien im Blut, obwohl die Injektion den Tod zur Folge hatte. Er zog daraus den Schluß, daß das Bakterium selbst nicht giftig ist, sondern die von ihm aus den jeweilig zur Verfügung stehenden Nährsubstraten gebildeten Toxine, ohne daß dabei eine Vermehrung des Bakteriums einzutreten braucht. Dieses Ergebnis wird noch heute von den meisten Autoren anerkannt.

Die Pathogenität des Bact. alcaligenes hat als erster Petruschky (42) erwähnt. Lindemann ist der Ansicht, daß es pathogene wie apathogene Arten gibt. Da jedoch die Virulenz von Bact. proteus sowie von Bact. alcaligenes scheinbar sogar innerhalb einer Art schwankt, sollen die folgenden Versuche dazu beitragen, eine Erklärung darüber zu geben, unter welchen Bedingungen diese Bakterien pathogen sind.

Die nachfolgenden Versuche wurden mit liebenswürdiger Unterstützung des Herrn Prof. Dr. Seelemann, dem Direktor des Instituts für Milchhygiene, ausgeführt.

Folgende Nährsubstrate, die je mit zwei Bakterienstämmen von proteus (p_2 und p_4) und von alcaligenes (a_1 und a_2) beimpft waren, wurden an Mäuse verfüttert: Milch, Albumin, Erbsen, Dorschfleisch und Weißbrot.

Die vom Käse frisch isolierten, in Leberbouillon vorgezüchteten Stämme wurden auf obengenannte Nährsubstrate geimpft, die vorher im zerkleinerten Zustand dreimal im Dampftopf je ½ Std. erhitzt waren. Nach 16stünd. Bebrütung bei 30° wurden sie den Mäusen vorgesetzt.

Zu dieser Zeit war die Milch äußerlich noch nicht verändert; das Eiweiß zeigte einen schwachen, die Erbsen einen starken Anflug von Bakterien, ebenfalls schienen sie in dem lockeren Fischfleisch sehr gut zu wachsen, während dem Brot äußerlich nichts anzusehen war. Nach 2tägiger Fütterung mit diesem infizierten Substrat wurde 2 Tage lang normal gefüttert, um anschließend die Fütterung mit infizierter Nahrung zu wiederholen.

Die mit Bact. alcaligenes beimpften Nährsubstrate wurden scheinbar ohne Widerwillen gefressen; dagegen verspürten die Mäuse gegen die mit Bact. proteus beimpften Erbsen-, Fisch- und Eiweißsubstrate mehr oder weniger große Abneigung. In diesem Falle war es nötig, diese nach dem 1. Tag durch frisch hergestellte Nährsubstrate zu ersetzen, um die Tiere erneut dem Futternapf zuzuführen.

Verlauf: 1. Alcaligenes-Nährsubstrate.

Die mit Bact. alcaligenes-Nährsubstraten gefütterten Mäuse zeigten — abgesehen von anfänglich geringerer Freßlust — selbst bei wiederholter Fütterung keine auffälligen Erscheinungen. Wünschenswert wäre es gewesen, mit pathogenen Bact. alcaligenes-Stämmen zu arbeiten, um zu sehen, aus welchem Substrat

Toxine gebildet werden. Der feinste Indikator für die Virulenz des Bact. alcaligenes soll intraperitoneale Verimpfung auf Meerschweinchen (Lindemann) sein. Diese Versuche würden jedoch in das Gebiet der Medizin fallen.

2. Bact. proteus-Nährsubstrate.

Hier stellten sich schon 3 Std. nach Verabreichung des infektiösen Materials die ersten Krankheitssymptome ein. Die eine mit Eiweiß gefütterte Maus kroch in hockender Stellung langsam umher. Das Fell wurde struppig; das Tier machte durchaus einen kranken Eindruck. Morgens 9 Uhr hatte die Fütterung begonnen, nachmittags um 15 Uhr war das Tier tot. Eine sofort angestellte Sektion ergab folgendes Bild:

Lymphknoten und Milz waren geschwollen, die Lungen auffallend klein. Im Magen befand sich ein widerlich riechender, bräunlicher, dickflüssiger Inhalt. Von den einzelnen Organen wurden Plattenausstriche gemacht; in keinem Fall wurde ein Bact. proteus-Stamm mit denselben Eigenschaften herausgezüchtet, wie sie der Ursprungsstamm aufwies. Die Abmessungen waren viel kleiner und die Stämme aus dem Magen, der Milz, Niere und dem Herzen koagulierten Milch nach 12 Tagen, der Stamm aus der Lunge machte die Milch fadenziehend. Der Ausgangsstamm (p_4) vermochte dagegen die Milch nach 2 Tagen zu koagulieren und vom 3. Tage ab sie aufzulösen. Der Stamm aus der Leber hatte die Milch nach 12 Tagen noch nicht verändert.

Auffallend war der mikroskopische Befund. Die Stämme aus Milz und Lunge zeigten Schleimhüllenbildung um den Zelleib. Das mikroskopische Bild der 36stünd. Kultur auf den verschiedenen Nährmedien war folgendes:

In Milch: normal, wenig Schwärmzellen.

Auf Erbsen und Fisch: viele Schwärmzellen von großer Beweglichkeit.

Auf Eiweiß: fadenförmige Schwärmzellen; äußerst stark beweglich.

Auf Brot: kurze, meist unbewegliche Formen.

Die Maus des Parallelversuches (p_2) zeigte erst nach 24 Std. krampfartige Krankheitssymptome. Bis zu dieser Zeit schien sie wenig Schmerzen zu spüren. Dann folgten die typischen Symptome jedoch rasch aufeinander; das Bild war ähnlich dem oben beschriebenen. Nach 2 Tagen wurde die Maus tot aufgefunden, indem sie sich — scheinbar vor Schmerzen — in der Drahtmasche des Käfigs festgebissen hatte. Wahrscheinlich war das Tier bereits vor einigen Stunden gestorben. Die Sektion ergab:

Lymphknoten, Milz und Leber geschwollen. Aus den Organen ließ sich in diesem Falle kein proteusähnlicher Stamm isolieren.

Unter ähnlichen Erscheinungen ging die mit infiziertem Dorschfleisch (p_4) gefütterte Maus am 2. Tage ein. Der Sektionsbefund war wieder der gleiche wie im letzten Falle. Ein proteusähnlicher Stamm ließ sich nur aus dem Herzblut isolieren, der Milch nach 12 Tagen koagulierte. Die Maus vom Parallelversuch (p_2) sowie die beiden mit Erbsen gefütterten Mäuse zeigten am 2. Tage ähnliche Krankheitssymptome, ohne daß die Toxinmenge ausreichte, tödlich zu wirken. Die mit Milch und Brot gefütterten Mäuse wiesen auch nach wiederholten Fütterungen keine Krankheitssymptome auf.

Ergebnis.

Zwei auf verschiedene Nährsubstrate geimpfte Bact. alcaligenes-Stämme führten bei Verfütterung an Mäuse zu negativem Ergebnis. Derartige Fütterungsversuche müßten noch mit vielen Stämmen wiederholt werden.

Bei Verfütterung von Nährsubstraten, die mit Bact. proteus beimpft waren, ergab sich folgendes: Reines Albumin führte in beiden Fällen zum Tode, Dorschfleisch in einem, während der zweite sowie Erbsen, leichte Krankheitssymptome hervorriefen. Verfütterung von Milch und Brot führte zu negativem Ergebnis. Daraus ist ersichtlich, daß der Bact. proteus-Stamm nicht in jedem Falle nach Verfütterung pathogen zu sein braucht, vielmehr dürfte die Virulenz weitgehend vom Nährsubstrat, das verfüttert wird, abhängig sein. Wahrscheinlich geht die Bildung von giftigen Ptomainen bei Abwesenheit von Zucker leichter vor sich als bei seiner Gegenwart. Eventuell ist sogar daraus zu schließen, daß nicht das Bakterium als solches eine Erkrankung bzw. den Tod zur Folge hat, sondern die von dem Bact. proteus aus bestimmten Substanzen gebildeten Stoffwechselprodukte.

Tab. 7. Einige Eigenschaften der Versuchsstämme.

	Milch: Tage				Gel.	Ind.	Gram.	Säuerung von	
	3	6	12	18				Traubz.	Milchz.
B. proteus									
p_1	pep.	pep.	pep.	pep.	5 ccm+	+	—	(Gas)	—
p_2	—	„	„	„	2 ccm+	+	—	+	—
p_3	—	„	„	„	2 ccm+	—	—	—	—
p_4	cog.	„	„	„	2 ccm+	+	+	+	—
B. fluor.									
f_1.	—	pep.	pep.	grün pep.	3 ccm+	—	—	+	—
f_2.	cog.	Schleim	„	„	2 ccm+	—	—	+	—
f_3.	„	„	„	„	2 ccm+	—	—	(+)	—
f_4.	—	pep.	„	„	3 ccm+	—	—	+	—
B. alcal.									
a_1	—	—	—	braun	—	—	—	—	—
a_2	—	—	—	„	—	—	—	—	—
a_3	—	—	—	„	—	—	—	—	—
a_4	—	—	braun	„	—	—	—	—	—

C. Zusammenfassung.

1. Die Lebensbedingungen, die die Bakterien auf verschieden alten Käsen antreffen, wurden besprochen; es wurde gefunden, daß diese Bedingungen für die drei Bakterienarten im Laufe der Reifung der Käse einer stetigen Veränderung unterworfen sind.

2. Eine große Zahl von Proben aus der Tilsiter Käseschmiere wurde auf die Anwesenheit von Bact. proteus, fluorescens und alcaligenes hin untersucht; diese wurden als solche bestimmt.

3 a. 18,4—57,3% 1—3monatiger Käse waren mit Bact. proteus infiziert, was außerordentlich bedeutsam ist, zumal es in bis zu 30% sämtlicher Proteusinfektionen eine Fäulnis bewirkte.

3 b. Bact. fluorescens wurde in allen Altersstadien der Käse auf diesen nur selten gefunden.

3 c. Mit Bact. alcaligenes infizierte Käserinden wurden vor allem bei einmonatigen Käsen gefunden. Auf älteren Käsen trat es nur vereinzelt auf. Bei der Geißelfärbung wurde beobachtet, daß dieses Bakterium seine Geißeln äußerst leicht abwirft; diese Tatsache sollte bei der Diagnose mehr Berücksichtigung finden.

4. Mittels Cystinagarpassagen konnte eine Wiedererlangung des Traubenzuckersäuerungsvermögens bei 3 von 4 Stämmen erreicht werden (Bact. proteus).

5. Es wurde gefunden, daß Bact. fluorescens äußerst salzempfindlich ist, während Bact. proteus und Bact. alcaligenes noch bei höheren Konzentrationen wuchsen. Gegen Trockenheit waren Bact. alcaligenes außerordentlich und Bact. proteus weniger stark empfindlich. Bact. fluorescens dagegen war praktisch unempfindlich gegen Austrocknung. Immerhin soll hiermit auf Grund der nicht geringen Empfindlichkeit des Bact. proteus gegen Trockenheit eine Möglichkeit für seine Bekämpfung auf Hartkäse gezeigt werden. Weiterhin wurde der Einfluß des Kochsalzes auf die morphologische Struktur und auf die Bewegung beobachtet.

6a. Temperaturen unter 10° wirkten hemmend auf das Wachstum von Bact. proteus in Milch, nicht jedoch auf die Vermehrung von Bact. fluorescens und alcaligenes.

6b. Die Milchsäurebakterien gewannen in Milch bei jeder Temperatur über Bact. alcaligenes und proteus früher oder später die Überhand. Nur Bact. fluorescens konnte unter 10° die Oberhand gewinnen.

7a. Bact. proteus griff am augenfälligsten in die Struktur der Käse ein, während die mit Bact. fluorescens und alcaligenes beimpften Käse nur langsam bzw. wenig verändert wurden.

7b. In Symbiose mit Milchsäurebakterien wurden die Käse durch Bact. proteus weitgehend angegriffen, ohne daß sie der vollkommenen Zersetzung unterlagen. Die mit den anderen beiden Bakterien und Milchsäurebakterien beimpften Käse wurden nur wenig verändert.

8. Eine toxische Wirkung bei zwei Bact. alcaligenes-Stämmen konnte nach Verfütterung von verschiedenen Nährsubstraten nicht nachgewiesen werden. Mit Bact. proteus beimpftes Eiweiß führte in beiden Fällen, Dorschfleisch in einem Fall zum Tode der gefütterten Mäuse. Es liegt nahe, anzunehmen, daß nicht das Bact. proteus selbst, sondern die von ihm gebildeten Toxine den befallenen Organismus schwächen. Die Toxinbildung ist offenbar von dem Nährboden abhängig.

Ich möchte nicht versäumen, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. W. Henneberg (†) für die Überlassung des Themas sowie für die mir zuteil gewordene Unterstützung meinen herzlichsten Dank zu sagen.

Ebenfalls danke ich an dieser Stelle Herrn Prof. Dr. Scelemann für die freundliche Hilfe bei der Beendigung der Arbeit.

Literaturverzeichnis.

1. Adametz, L., Über die Ursachen und Erreger der abnormen Käsungsvorgänge beim Käse. Bremen 1893. — 2. Babcock, S. M. und Russell, H. L., Der Einfluß des Zuckers auf die Natur der in der Milch und dem Käse vor sich gehenden Gärung. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 9. 1902.) — 3. Baerthlein, H., Über choleraähnliche Vibrionen. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I. Bd. 67. 1912. S. 321.) — 4. Bergey, D. H., Manual of Determinative Bacteriology. 4. Aufl. Baltimore 1934. — 5. Berghaus in: Lindemann (32). — 6. Boecker, E. und Kauffmann, F., Bakteriologische Diagnostik. Berlin 1931. — 7. Boysen, O., Über die Mikroflora des Wilster Marschkäses und ihre Entwicklung während des Reifens. (Milchwirtsch. Forsch. Bd. 18. 1936. S. 150.) — 8. Burckhardt in: Lehmann und Neumann (29). — 9. Diethelm, A., Studien über die Bakterienflora des normal reifenden Tilsiter Käses. Diss. Kiel 1932. — 10. v. Freudenreich, E., Über die Rolle des Milchzuckers bei der Käsereifung. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1901.) — 11. Gottschlich in: Kolle — Kraus — Uhlenhuth, Handbuch der Pathogenen Mikroorganismen. Jena 1931. — 12. Grenz, A., Zur Mykologie des Tilsiter Käses. IV. Mykologie fehlerhafter Käse. (Milchw. Forsch. Bd. 14. 1933. S. 262—287.) — 13. Grimmer, B. und Aronson, E., Zur Mykologie des Tilsiter Käses. II. (Milchw. Forsch. Bd. 4. 1927. S. 538.) — 14. Grimmer, W. und Prinz, H., Zur Mykologie des Tilsiter Käses. (Forsch. a. d. Geb. d. Milchw. u. d. Molkereiwesens. Bd. 1. 1921. S. 377.) — 15. Harrison, F. C., and Codnell, W. T., A comparison of the bacterial content of cheese cured at different temperatures. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 11. 1904. S. 637.) — 16. Hauser, G., Über Fäulnisbakterien. Leipzig 1885. — 17. Heim, L., Zur Proteus-Diagnose. (Zentralbl. f. Bakt., Orig. Bd. 70. 1913. S. 81.) — 18. Heinze, B., Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 16. 1936. S. 837.) — 19. Hempt, H., Einfluß der Agar- und Gelatinekonzentration auf den Schwärmvorgang des Bact. proteus. (Zentralbl. f. Bakt., Orig. Bd. 126. 1932. S. 302.) — 20. Henneberg, W., Handbuch der Gärungsbakteriologie. Bd. 1 u. 2.

Berlin (Parey) 1926. — 21. Ders., Zur Kenntnis der Alkalibildner in der Milch. (Milchwirtsch. Forsch. Bd. 12. 1931.) — 22. Hillenberg und Bierotte in: Lindemann (32). — 23. Hüttig, C., Statistische Untersuchungen an Bakterienarten aus der Fluorescens-Gruppe. (Milchw. Forsch. Bd. 8. 1929. S. 513.) — 24. Klimenko, W. N., Die Gruppe des Bac. faecalis alcaligenes. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I. Bd. 43. 1907. S. 755—774.) — 25. Koblmüller, L. O., Untersuchungen über Streptokokken. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I. Bd. 133. 1934/35.) — 26. Koestler, G., Über die von der Rinde her sich vollziehende Entsäuerung des Hartkäseteiges. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. Bd. 43. 1929. S. 1065.) — 27. Kollath, W. und Zittner, E., Eine einfache Methode, das Schwärmen des Bact. proteus zu verhindern. (Zentralbl. f. Bakt., Orig. Bd. 132. 1935.) — 28. Lantzsch, Kurt, Beitrag zur Kenntnis der Fluorescens-Gruppe. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I. Bd. 87. 1922.) — 29. Lehmann, K. B. und Neumann, R. O., Bakteriologische Diagnostik. 7. Aufl. Bd. 1 u. 2. München 1927. — 30. Lembke, A., Biologische Untersuchungen über Sauermilchquarg, mit besonderer Berücksichtigung der Oospora-Gruppe. Die proteolytischen Enzyme verschiedener Oospora-Arten. Diss. Kiel 1933. — 31. Lieske, R., Allgemeine Bakterienkunde. Leipzig 1921. — 32. Lindemann, G., Über die Pathogenität des Bac. faecalis alcaligenes. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I. Bd. 115. 1930. S. 328.) — 33. Luxwolda, Wissi-Beene, Wachstum und Wirkung einiger Milchbakterien bei verschiedenen Temperaturen. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 31. 1912. S. 129.) — 34. Matzuschita, T., Bakteriologische Diagnostik. 1902. — 35. Meyerhoff, M., Über einige biologische und tierpathogene Eigenschaften des Bac. proteus (Hauser). (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I. Bd. 24. 1898.) — 36. Migula, W., System der Bakterien. 1900. — 37. Moltke, O. in: Plähn (43). — 38. Monias, B. L., Journal inf. Dis. Vol. 43. 1928. p. 330. — 39. Nyberg, C., Bac. faecalis alcaligenes Petruschky. (Zentralbl. f. Bakt., Orig. Bd. 133. 1935. S. 443.) — 40. Orla-Jensen in: v. Freudenreich (10). — 41. Peters, A., Untersuchungen über Vorkommen und Bedeutung von farbstoffbildenden Bakterien in der Schmiere von Weichkäse. Diss. Göttingen 1924. — 42. Petruschky, J., Bac. faecalis alcaligenes. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I. Bd. 19. 1896. S. 187.) — 43. Plähn, O., Das Bact. vulgare in der Milchwirtschaft. Diss. Kiel 1936. — 44. Pollak, R., Über Formenwechsel bei dem Bac. faecalis alcaligenes. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I. Bd. 68. 1913. S. 288—291.) — 45. Přibram, E. und Pulay, E., Beiträge zur Systematik der Mikroorganismen. 1. Gruppe des Bact. fluorescens. (Zentralbl. f. Bakt., Orig. Bd. 76. 1915. S. 321 ff.) — 46. Reichert, R., Über die Sichtbarmachung der Geißeln und die Geißelbewegung der Bakterien. (Zentralbl. f. Bakt., Orig. Bd. 51. 1909.) — 47. Ruß-Münzer, A., Über das Schwärmphänomen des Bac. proteus. (Zentralbl. f. Bakt., Orig. Bd. 133. 1935. S. 214.) — 48. Ryti, E., Zur Frage der Bezeichnung des Bac. faecalis alcaligenes (Petruschky). (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I. Bd. 115. 1930.) — 49. Sartorius in: Plähn (43). — 50. Seifert, H., Das Schwärmphänomen des Bact. proteus. (Zentralbl. f. Bakt., Orig. Bd. 133. 1935.) — 51. Schulz, M., Über die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration für die Beurteilung von Käse, insbesondere von Tilsiter Käse. (Molkereiztg., Hildesheim. Nr. 30. 1930. S. 527.) — 52. Steinfatt, E., Über Bact. linens und seine Beziehungen zu einigen Begleitorganismen in der Käseschmiere beim Eiweißabbau in Milch. Diss. Kiel 1929. (Milchw. Forsch. Bd. 9.) — 53. Stigell, R. in: Plähn (43). — 54. Storck, W., Beitrag zur Kenntnis der Alkalibildner in Rohmilch. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 94. 1936.) — 55. Strecker, I., Untersuchungen über Bact. alcaligenes L. et N. (Bac. faecalis alcaligenes Petruschky). Med. Diss. Würzburg 1917. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 51. 1920. S. 378.) — 56. Weigmann, H., Handbuch der praktischen Käserei. 4. Aufl. Berlin (Parey) 1933. — 57. Zeiss, E., Sammelreferat. (Ergebn. d. Hygiene. Bd. 5. 1922.)

Nachdruck verboten.

Der Pflanzenkrebs und sein Erreger Pseudomonas tumefaciens.

VII. Mitteilung.

Untersuchungen über die Möglichkeit einer wirksamen Bekämpfung an Kernobstgehölzen.

[Aus der mikrobiologischen und chemischen Abteilung der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem.]

Von **C. Stapp** und **Heinr. Müller**, unter Mitwirkung von **F. Dame.**

Mit 16 Abbildungen im Text.

A. Einleitung 210
B. Vorarbeiten und Infektionsversuche 212
1. Neuzüchtung von Pseud. tumefaciens
a) auf direktem Wege 212
b) auf indirektem Wege 214
2. Prüfung von Pseud. tumefaciens
a) auf die Beeinflußbarkeit der Virulenz durch Nährsubstrate 215
b) auf die unterschiedliche Virulenz an verschiedenen Wirtspflanzen . 219
3. Infektionsmöglichkeiten und Inkubationsdauer 220
C. „Wanderung" von Pseud. tumefaciens in der Wirtspflanze . . . 223
D. Versuche zur Bekämpfung des Wurzelkropfes an Kernobstwildlingen . . 227
1. Mechanische Maßnahmen 227
2. „Physiologische" Maßnahmen 231
3. Biologische Maßnahmen 233
4. Chemische Maßnahmen 241
a) Laboratoriumsversuche 242
b) Topfversuche im Gewächshaus 247
c) Frühbeetversuche 251
d) Feldversuche 252
E. Zusammenfassung und Schlußfolgerung 271
F. Schrifttum 273

A. Einleitung.

In fast allen obstbautreibenden Ländern dürfte dem Wurzelkropfproblem eine wirtschaftliche Bedeutung zukommen, die je nach Verseuchungsgrad in den einzelnen Bezirken graduell wechselnd, aber stets vorhanden sein wird. Die Baumschulen sind hierbei in erster Linie betroffen, weil die Krankheit bei der Heranzucht von Unterlagenmaterial besonders für Kernobst die stärksten Ausfälle verursacht. In Deutschland sind bei den Birnenwildlingen die Verluste im allgemeinen am größten. Ob es Gegenden in Europa gibt, in denen der Wurzelkropf nur gelegentlich zu finden ist, wie das A. J. Riker (53) vom Nordwesten Frankreichs angibt, wo er als Ausländer auf der Durchreise 8 Baumschulen besichtigte und keinen Tumorbefall an Birne, Apfel, Kirsche, Pflaume und Rose fand, scheint doch mehr als fraglich. Aus der gleichen Gegend nach Deutschland importiertes Wildlingsmaterial von Birne und Apfel war jedenfalls nicht immer kropffrei.

Auch in Polen, Rußland, Ungarn, in der Tschechoslowakei und den Balkanländern ist der Wurzelkropf fast überall anzutreffen, und zwar vorwiegend an den Kernobstgehölzen. Steinobst ist, wenigstens in Europa, stets weniger gefährdet.

Über die Bekämpfung des Wurzelkropfes liegt bereits eine große Zahl von Veröffentlichungen vor.

In den Vereinigten Staaten von Nordamerika, wo der Wurzelkropf ebenfalls als „a serious trouble" [Sherbakoff (66), siehe auch Schilberszky (65)] erkannt wurde, und von wo die weitaus größte Zahl von Untersuchungen über den Wurzelkropf und seinen Erreger stammt, sind im Jahre 1922 und 1923 (67) die ersten Bodendesinfektionsversuche mit Schwefel durchgeführt worden, nachdem der Schwefel dort als Mittel zur Schorfbekämpfung an Kartoffeln im Boden günstig gewirkt hatte und die Verschlimmerung beider Krankheiten durch die gleichen Faktoren, nämlich übermäßige Humusdüngung und gute Kalkung, beobachtet worden war.

Da in Nordamerika die Veredelung des Wildlingsmaterials im Gegensatz zu der in Deutschland üblichen Weise sehr tief, am Wurzelhals oder wenig darüber, erfolgt, so ist dort das Auftreten von Wucherungen auch an diesen Veredelungsstellen recht häufig (58, 60, 62, 61, 54). Diese Wucherungen sollen allerdings nur zum Teil durch den Wurzelkropferreger verursacht, zum größeren Teil aber nicht parasitärer Natur sein (36, 40). Sie werden im letzteren Falle als „wound overgrowths" bezeichnet. Als Vorbeugungsmaßnahme gegen beide Arten von Wucherungen ist neuerdings die Verwendung eines Pflasters üblich. Dieses „adhesive tape wrapper" oder „nurseryman's tape" stellt eine billige Modifikation eines Heftpflasters, wie z. B. des Leukoplastes dar, das ein Desinficiens (nicht Zinkoxyd) enthält und wie Isolierband um die Veredelungsstelle gewickelt wird (60). Dadurch wird einmal die Bildung stärkeren Wucherungsgewebes an den Verwachsungsstellen verhindert, zum anderen dem Erreger das Eindringen in die Wunde von außen unmöglich gemacht.

In Deutschland spielen solche Wucherungen keine Rolle. Hier sind es vor allem die beim Rückschnitt der Wurzeln, dem sog. Putzen der Pflanzen beim Umschulen entstehenden frischen Wunden, die eine Infektion besonders begünstigen, sowie die Frühinfektionen der Sämlinge. Deshalb war im Jahre 1926 (42) als Verhütungsmaßnahme die Tauchung der Pflanzen bis zum Wurzelhals in Uspulun[1]) - Lehmbrei und gegebenenfalls auch eine Bodendesinfektion der Anzuchtsbeete mit Uspulun empfohlen worden. Obwohl das Tauchverfahren nur einen vorübergehenden Schutz vor Befall durch Pseud. tumefaciens darstellt, wurde es, zumal es bei Nachprüfungen recht gute Ergebnisse gegenüber unbehandelten zurückgeschnittenen Wildlingen zeitigte und in der Durchführung einfach war, in das Flugblatt Nr. 78 der Biologischen Reichsanstalt[2]) aufgenommen und auch sonst empfohlen (16, 17, 19, 31, 37, 77, 78, 15, 20). Ebenso wurde es in Holland (9), Ungarn (25, 26), Polen (8) u. a. Staaten angewandt.

Auch eine Reihe anderer Bodendesinfektions- und Tauchmittel sind in den verschiedenen Ländern auf ihre Eignung geprüft worden, doch meist mit geringerem Erfolg.

Von uns wurden die Untersuchungen zwecks wirksamer Bekämpfung des Wurzelkropfes wieder aufgenommen, weil die alleinige Tauchung nicht für ausreichend gehalten wurde und andererseits die Verwendung des hierzu notwendigen Uspuluns infolge seines hohen Quecksilbergehaltes nicht rationell erschien.

[1]) Jetzt unter dem Namen „Uspulun-Saatbeize" im Handel.

[2]) 1. Aufl. Februar 1928, 2. Aufl. Oktober 1931, 3. Aufl. Februar 1937, 4. Aufl. Januar 1938 (73).

Es sollten bei den Prüfungen der Vorbeugungs- bzw. Bekämpfungsmaßnahmen auch diejenigen mechanischer, physiologischer und biologischer Art neben den chemischen, die sich sowohl auf die Erprobung von Mitteln für das Tauchverfahren als auch auf solche für die Bodendesinfektion erstreckten, mit herangezogen werden.

Nach der durch die Hauptvereinigung der deutschen Gartenbauwirtschaft angestellten letzten Erhebung (14) sind 1937 in deutschen Baumschulen allein rund 10 000 000 Apfel- und 3 000 000 Birnenunterlagen aufgepflanzt worden. Wird berücksichtigt, daß diese mindestens 2, meist sogar 3 Jahre im Boden bleiben, ehe die Veredelungen als verkaufsfertige Bäumchen herausgenommen werden und wird dabei bedacht, daß während dieser ganzen Zeit die Gefahr des mehr oder weniger starken Befalls durch den Wurzelkropferreger besteht, die selbstverständlich auch für die etwa gleiche Anzahl Unterlagen bzw. Veredelungen des Vorjahres noch vorhanden ist, so bedarf es keiner weiteren Erläuterung für die Notwendigkeit der Durchführung geeigneter Bekämpfungsversuche.

B. Vorarbeiten und Infektionsversuche.

1. Neuzüchtung von Pseud. tumefaciens.

Unser Bestreben ging zunächst dahin, zu besonders an Kernobstgehölze angepaßten und für diese hochvirulenten Stämmen von Pseud. tumefaciens zu gelangen. Obwohl wir uns der Schwierigkeiten bewußt waren, die dem entgegenstanden, wurden doch entsprechende Versuche auf breiter Grundlage in Angriff genommen.

a) auf indirektem Wege.

Die Isolierung von Pseud. tumefaciens in der üblichen Weise aus Tumoren von Kernobstgehölzen mittels des Kochschen Plattenverfahrens gelingt zwar in vielen Fällen, sofern das Ausgangsmaterial geeignet ist, doch sind in weit mehr Fällen die aus den Tumoren herausgezüchteten Bakterien nicht pathogen (71, 13) bzw. verlieren ihre Pathogenität bereits bei der zweiten oder dritten Umimpfung auf dem künstlichen Substrat. Das ist insofern auffallend, weil die Isolierung pathogener Bakterien aus Tumoren mehr krautiger Pflanzen, z. B. von Chrysanthemum frutescens oder Pelargonium zonale, im allgemeinen ohne Schwierigkeit möglich ist. Auch aus durch künstliche Infektion mit Reinkulturen von Pseud. tumefaciens an Kernobstwildlingen hervorgerufenen Tumoren gelingt die Reisolierung der virulenten Bakterien eher als die Herauszüchtung aus durch Spontaninfektion entstandenen Tumoren. Methodisch wurde bei den Isolationen folgendermaßen vorgegangen:

Jüngere und noch im starken Wachstum begriffene, möglichst weiche, weißliche Tumoren 1- und 2jähriger Wildlinge aus den verschiedensten verseuchten Baumschulen wurden herausgeschnitten, mit Wasser und weicher Bürste von den anhaftenden Erdteilchen vorsichtig gereinigt, mehrfach mit sterilem Wasser abgespült und von diesen Tumoren dann entweder unmittelbar oder nach kurzem Belassen in 96proz. Alkohol und Abflammen derselben zwecks oberflächlicher Sterilisation mit sterilem Messer 3—4 mm dicke Scheiben oder Stücke entnommen. Die eigentlichen Isolierungen erfolgten nun nach verschiedenen Verfahren:

Erstens wurden die Tumorstücke in einem sterilisierten Mörser unter einer Glasplatte — zum Schutz gegen Keime aus der Luft — mit etwa 5 ccm sterilem Wasser zerrieben. Der entstandene wässerige Tumorgewebebrei blieb mindestens 1 Std. lang

im verschlossenen sterilen Reagenzglas stehen, um den Bakterien die Möglichkeit zu geben, sich zu „aktivieren". Von diesen Aufschwemmungen wurden dann Verdünnungsplatten entweder mit Bouillon-Agar oder mit Kristallviolett-Agar nach Patel (43—45) angelegt. Nach mehrtägiger Bebrütung der Petrischalen bei 26° C wurden alle Pseud. tumefaciens-ähnlichen Kolonien in Röhrchen mit 5 ccm Eisen-Mangan-Möhrensaft nach Stapp und Bortels (75) übergeimpft. In dieser Spezialnährlösung bildete Pseud. tumefaciens nicht allein die charakteristischen „Sterne", sondern es ließen sich in der Regel auch bei Anfärbung mit Methylenblau Volutinkugeln in der Bakterienzelle deutlich nachweisen. Ferner konnte stets festgestellt werden, daß allein Pseud. tumefaciens in dieser Nährlösung zunächst unter fädiger Flockenbildung und später unter starker Schleimbildung wuchs, so daß sich nach ein- bis mehrwöchiger Kultur am oberen Rand der Nährlösung ein deutlicher gallertiger Schleimring bildete und nach mehrmonatiger Kultur die ganze Nährlösung in eine dicke Schleimgallerte verwandelt wurde. Diese Schleimbildung in Verbindung mit den „Sternen" in Eisen-Mangan-Möhrensaft und dem Auftreten von Volutinkugeln innerhalb der Einzelzellen ließ sich als charakteristisches Kennzeichen zur Identifizierung von Pseud. tumefaciens verwerten. Mittels des Bouillon-Agars gelang die Isolierung von einer größeren Zahl von Stämmen, einige wenige wurden auch mit Hilfe von Kristallviolett-Agar gewonnen.

Zweitens wurde die Tumorscheibe unmittelbar in Röhrchen mit 5 ccm Eisen-Mangan-Möhrensaft übertragen und während der folgenden 3 Tage die mikroskopische Prüfung der aus ihr herausgewachsenen Bakterien vorgenommen. Sofern Wachstum von Pseud. tumefaciens unter fädiger Flockenbildung und Schleimringbildung erfolgte, wurden zur Reinigung Verdünnungsplatten auf Bouillon-Agar angelegt. In der Regel wuchsen jedoch andere Erdbakterien, die von den am Tumor haftenden, kleinsten Erdteilchen herrührten und trotz oberflächlicher Sterilisierung des Tumors durch Abflammen mit Alkohol auftraten, stärker als Pseud. tumefaciens in der Nährlösung, so daß die Isolation mittels Eisen-Mangan-Möhrensaft nur in einem Falle von Erfolg begleitet war.

Drittens wurde die Tumorscheibe in „Apfelsaft" übertragen und wie in Eisen-Mangan-Möhrensaft weiterbehandelt. Der Apfelsaft wurde durch Verdünnung von handelsüblichem Apfelfruchtsaft mit der gleichen Menge Wassers und Neutralisierung mit Natriumkarbonat hergestellt. Diese Nährlösung wies jedoch gegenüber dem Eisen-Mangan-Möhrensaft keine Vorteile auf. Infolge des starken Wachstums anderer Erdbakterien im Apfelsaft gelang es hiermit nicht, Pseud. tumefaciens aus Kernobsttumoren zu isolieren.

Viertens wurde die Tumorscheibe in Röhrchen mit je 5 ccm Apfelstamm-, Apfelwurzel-, Birnenstamm- oder Birnenwurzel-Auszug übertragen. Diese Auszüge wurden durch 2stünd. Extraktion von 10 g im Mörser zerriebenen, noch möglichst wenig verholzten Wildlingsstengel- bzw. -wurzelteilen mit der 10fachen Menge Wassers im Autoklaven bei 1,5 Atü hergestellt und dann nochmals mit der 10fachen Menge Wassers verdünnt, da das Bakterienwachstum in derart verdünnten Auszügen bedeutend stärker war als in den unverdünnten (siehe unten). Indessen konnte auch mittels dieser Nährlösungen Pseud. tumefaciens aus den eingetragenen Tumorstücken nicht herausgezüchtet werden.

Insgesamt waren etwa 85 Stämme von Pseud. tumefaciens in Reinkultur aus den verschiedenen Apfel- und Birnentumoren nach dem ersten Verfahren isoliert worden.

Bei der Prüfung auf ihre Virulenz an Helianthus annuus, Pelargonium zonale und Datura Tatula erwiesen sich jedoch sämtliche Stämme als apathogen, obwohl sie im übrigen physiologisch vollkommen mit unseren pathogenen Sammlungskulturen übereinstimmten. Stämme, bei denen sich morphologische Abweichungen zeigten, waren bereits zu Anfang ausgeschaltet worden.

Im Gegensatz hierzu waren Stämme aus Tumoren an Apfel und Birne, die nach künstlicher Infektion mit Sammlungskulturen, wie Stamm Chrys. frut. II b (= II b), Stamm Dahlia Ra (= Ra) und dem Smithschen Stamm aus Hopfen (= B. t.) entstanden waren, nach dem gleichen Verfahren reisoliert, noch fast immer im Besitze ihrer Pathogenität.

b) auf indirektem Wege.

Da die Gewinnung pathogener Stämme von Pseud. tumefaciens aus spontan entstandenen Apfel- und Birnenwildlingen in der in der Bakteriologie sonst üblichen Weise nicht gelang, wurden die Versuche auf indirektem Wege fortgesetzt. Hierbei wurde so vorgegangen, daß kleine Tumorstückchen von Apfel und Birne auf Helianthus annuus und andere zur leichten Tumorbildung durch Pseud. tumefaciens neigende Wirtspflanzen übertragen wurden, ähnlich wie das bei Transplantationen von Gewebestücken in der Humanmedizin üblich ist und wie das M. Levine (33) erfolgreich auch mit Tumoren von Ricinus auf Ricinus, Tabak, Pelargonien u. a. Pflanzen und K. Schilberszky (65) von Petunien auf Pelargonien ausgeführt haben. Aus den an den krautigen Wirtspflanzen entstehenden Tumoren sollte dann der bakterielle Erreger isoliert werden.

Da die Tumorstücke von ganz anderen Pflanzenarten und -familien stammten als diejenigen, auf die sie gebracht wurden, bestand selbstverständlich keine Aussicht, daß die Stücke anwachsen würden. Es war aber die Möglichkeit gegeben, daß — sofern die frische Schnittstelle vom Tumor mit der frischen Wunde der neuen Wirtspflanze längere Zeit in engster Berührung blieb — ein Überwandern von pathogenen Erregern in letztere stattfinden würde. Die Tumorstücke wurden entweder keilförmig geschnitten und in einen radialen Spalt des Stengels der Wirtspflanze eingesetzt oder aber es wurde ein Tumorstück in der Breite des betr. Triebes der Wirtspflanze gewählt und dem Stengel dieser, nachdem ein entsprechendes peripheres Stück, etwa bis zum Kambium reichend, aus ihm herausgeschnitten war, fest angelegt. Teilweise wurde auch das Tumorstückchen umgekehrt, d. h. mit der Außenseite auf die Wunde aufgelegt, weil nach Angaben in der Literatur die Oberfläche des Tumors mehr bakterielle Erreger enthalten soll, als die inneren Gewebeschichten desselben (48, 35). Tumorstück und Wirtspflanze wurden mit Bast fest zusammengehalten.

Übertragungen wurden vorgenommen außer auf Helianthus annuus; auch auf Datura Tatula, Pelargonium zonale und Solanum lycopersicum.

Von der sehr großen Zahl der in obiger Weise angesetzten Versuche ist der allergrößte Teil auch hier ergebnislos verlaufen. In mehreren Fällen aber entwickelten sich Tumoren an den Wirtspflanzen. So war es möglich, mit Birnentumorstückchen in 6 Fällen auf Helianthus, in 7 Fällen auf Datura Tumoren hervorzurufen. Mit Apfeltumorstückchen gelang die Erzielung einer Wucherung auf Helianthus in einem Falle, auf Datura in 6 Fällen.

Aus den neuentstandenen Tumoren ließ sich dann verhältnismäßig leicht Pseud. tumefaciens mit Bouillon-Agar isolieren. Eine größere Anzahl der jeweils auf den Platten entstandenen Kolonien wurde abgeimpft. Von diesen Stämmen erwiesen sich mehrere bei erneuter Prüfung auf Virulenz als pathogen.

Während aber L. Niemeyer (41) bei der Isolierung des Erregers der Mauke des Weines auf indirektem Wege zu besonders virulenten Stämmen gelangte, blieben unsere Isolierungen gegenüber den seit mehreren, z. T. vielen Jahren in der Sammlung gehaltenen Stämmen Ra, B. t. u. a. in der Virulenz zurück.

Sie besaßen auch, wie sich in späteren Untersuchungen zeigte, keine größere Widerstandsfähigkeit gegenüber Pflanzenschutzmitteln, während andererseits die auf direktem Wege aus Apfel- und Birnentumoren isolierten avirulenten Stämme sich hierbei wie alle anderen virulenten verhielten. Der Virulenzverlust war demnach auf das physiologische Verhalten in dieser Richtung ohne Einfluß geblieben.

Zahlreiche Versuche, zu Tumorbildungen an den krautigen Wirtspflanzen zu gelangen, wenn auf die Wunde an Stelle der Tumorstückchen von Kernobstwildlingen Erde von spontan stark verseuchten Baumschulböden gebracht wurde, waren jedoch ohne jeden Erfolg.

2. Prüfung von Pseudomonas tumefaciens

a) auf die Beeinflußbarkeit der Virulenz durch Nährsubstrate.

Wenn es nicht oder zumindest sehr selten gelingt, auf direktem Wege unter Verwendung von Bouillon-Agar aus Tumoren der Kernobstgehölze virulente Stämme von Pseud. tumefaciens herauszuzüchten, sondern auf diese Weise fast nur apathogene Kulturen erhalten werden, so bestehen mehrere Möglichkeiten der Ursachenerklärung hierfür: entweder die Bakterien haben bereits im Tumor zum allergrößten Teil völlig ihre Virulenz verloren oder aber die Art der Isolierung oder das zur Isolierung verwendete Nährsubstrat muß für den Virulenzverlust verantwortlich gemacht werden. Es wäre also vielleicht der zumeist gebräuchliche Bouillon-Agar ungeeignet. Obzwar seine Verwendung bei der Herauszüchtung der Erreger aus Tumoren krautiger Pflanzen unbedenklich ist, könnten die Bedingungen bei holzigen Pflanzen andere sein. Es lag nahe, bei der Wahl etwa geeigneter Nährsubstrate zunächst solchen den Vorzug zu geben, die aus der gleichen Wirtspflanzenart, aus deren Tumoren die Bakterien gezüchtet werden sollten, oder aus Teilen derselben herzustellen sind. Es wurden deshalb, wie S. 213 angegeben, als Nährsubstrate Auszüge aus Wurzel- oder Stammstückchen von Apfel- bew. Birnenwildlingen verwendet. Ebenso wurde käuflicher Apfelsaft entsprechend verdünnt und entweder roh oder nach Hitzesterilisation als Nährmedium geprüft. Virulente Sammlungs- und frisch isolierte pathogene und apathogene Kulturen aus Apfel- und Birnenwildlingen entwickelten sich „normal" in ihnen. Prüfungen der Bakterienstämme, die einmal oder mehrmals hintereinander jeweils in diesen Substraten gezüchtet wurden, zeigten keine Veränderungen ihrer Virulenz bzw. ihrer Avirulenz, wenn sie in Keimlinge von Helianthus annuus oder in junge Pflanzen von Datura Tatula geimpft wurden.

Weitere Versuche in dieser Richtung wurden noch mit wässerigen Tumorauszügen von Apfelwildlingen ausgeführt.

Von kleineren, noch nicht völlig verhärteten Tumoren wurden nach gründlicher Reinigung mit Wasser und Bürste und Abflammen mit Alkohol unter möglichst aseptischen Bedingungen Oberflächenstückchen abgeschnitten, im Mörser mit wenig sterilem Wasser zerrieben und noch soviel Wasser zugeführt, bis etwa das 30fache des Tumorgewebes erreicht war. Die frisch hergestellten Tumoraufschwemmungen wurden sofort auf ein steriles Faltenfilter gebracht und das Filtrat zu je 3 ccm in Röhrchen abgefüllt. In einer Serie wurden je 3 ccm Filtrat mit einer Öse voll frischer Kulturen von Stamm Ra, B. t. oder einem Smithschen Stamm aus Pfirsich (= S. Pf.) beimpft. In einer zweiten Serie wurden Röhrchen mit je 5 ccm sterilen Wassers je 2 Tropfen des wässerigen konzentrierten Tumorauszuges zugesetzt und diese wie die erste Serie beimpft.

Nach 1½, 3½ und 21—22 Std. wurde in Eisen-Mangan-Möhrensaft übergeimpft und hieraus nach 6—10 und nach 137—142 Tagen Material für Helianthusinfektionen entnommen. Alle beimpften Röhrchen mit Eisen-Mangan-Möhrensaft hatten gutes Wachstum gezeigt. Das Ergebnis der Infektionen ist in Tab. 1 wiedergegeben.

Tab. 1. Beeinflußbarkeit der Virulenz von Pseud. tumefaciens durch das Substrat (Apfeltumor-Auszug).

Wässeriger Apfeltumor-Auszug (A.T.A.)	Beimpft mit Stamm	Bakterien in A.T.A. Std.	Fe Mn Mö-Saft Tage	Infektion von Helianthus am 1937	Ergebnis am	
unverdünnt	Ra	1½	10	22. 3.	14. 4.	3 st[1])
„	„	1½	10	22. 3.	14. 4.	1 st, 2?, 1—
verdünnt	„	1½	10	22. 3.	14. 4.	4 e/k
unverdünnt	„	1½	137	27. 7.	16. 8.	4 st
„	„	1½	137	27. 7.	16. 8.	1 e/k, 2 st/e, 1 st
verdünnt	„	1½	137	27. 7.	16. 8.	2 e/k
unverdünnt	B. t.	1½	10	22. 3.	14. 4.	5—
„	„	1½	10	22. 3.	14. 4.	3—
verdünnt	„	1½	10	22. 3.	14. 4.	1 e, 2 st
unverdünnt	„	1½	137	2. 8.	20. 8.	4—
„	„	1½	137	2. 8.	20. 8.	1 st, 3—
verdünnt	„	1½	137	2. 8.	20. 8.	2 e, 2 st
unverdünnt	S. Pfi.	1½	10	22. 3.	14. 4.	1 st, 3—
„	„	1½	10	22. 3.	14. 4.	2 st, 1—
verdünnt	„	1½	10	22. 3.	14. 4.	3 e/k, 1 e
unverdünnt	„	1½	137	27. 7.	16. 8.	1 st, 2—
„	„	1½	137	27. 7.	16. 8.	1 st, 3—
verdünnt	„	1½	137	27. 7.	16. 8.	2 e/k
unverdünnt	Ra	3¾	8	20. 3.	14. 4.	1 e, 2—
„	„	3¾	8	20. 3.	14. 4.	2 st, 1—
verdünnt	„	3¾	8	20. 3.	14. 4.	4 e/k
unverdünnt	„	3¾	137	27. 7.	16. 8.	1 e/k, 1 e, 2 st
„	„	3¾	137	27. 7.	16. 8.	1 e, 3 st
verdünnt	„	3¾	137	27. 7.	16. 8.	1 k, 1 e/k, 1 st
unverdünnt	B. t.	3¾	8	20. 3.	14. 4.	4—
„	„	3¾	8	20. 3.	14. 4.	4—
verdünnt	„	3¾	8	20. 3.	14. 4.	3 st/e, 1 st
unverdünnt	„	3¾	137	27. 7.	16. 8.	3—
„	„	3¾	137	27. 7.	16. 8.	3—
verdünnt	„	3¾	137	27. 7.	16. 8.	2 st, 1—
unverdünnt	S. Pfi.	3¾	8	20. 3.	14. 4.	1 st, 3—
„	„	3¾	8	20. 3.	14. 4.	1 st, 2?
verdünnt	„	3¾	8	20. 3.	14. 4.	2 e/k, 1 e, 1 st
unverdünnt	„	3¾	137	27. 7.	16. 8.	1 e, 2—
„	„	3¾	137	27. 7.	16. 8.	1 st/e, 3—
verdünnt	„	3¾	137	27. 7.	16. 8.	2 e/k, 1 st

[1]) Die Zahl vor den Buchstaben gibt die Anzahl der Pflanzen an, und es bedeuten st = stecknadelkopfgroße, e = erbsengroße, k = kirschgroße, st/e = stecknadelkopf- bis erbsengroße, e/k = erbsen- bis kirschgroße Tumoren.

Danach scheint selbst ein kurzes Belassen der pathogenen Erreger in dem unverdünnten Tumorauszug die Virulenz stärker zu beeinflussen. Es kann hier zu einem völligen Virulenzverlust kommen, während in fast allen Fällen mit verdünntem Tumorauszug die Infektionskraft weniger oder gar nicht geschwächt war.

Tab. 1. Beeinflußbarkeit der Virulenz von Pseud. tumefaciens durch das Substrat (Apfeltumor-Auszug).

Fortsetzung.

Wässeriger Apfeltumor-Auszug (A.T.A.)	Beimpft mit Stamm	Bakterien in A.T.A. Std.	Bakterien in Fe Mn Mö-Saft Tage	Infektion von Helianthus am 1937	Ergebnis am	Ergebnis
unverdünnt	Ra	21	6	18. 3.	14. 4.	3—
„	„	21	6	18. 3.	14. 4.	2 e/k, 1 st
verdünnt	„	21	6	18. 3.	14. 4.	3 e/k
unverdünnt	„	22	142	2. 8.	20. 8.	1 e/k, 1 e, 1 st, 1–
„	„	22	142	2. 8.	20. 8.	2 e/k, 1 st
verdünnt	„	22	142	2. 8.	20. 8.	3 e/k
unverdünnt	B. t.	22	6	18. 3.	14. 4.	4—
„	„	22	6	18. 3.	14. 4.	3—
verdünnt	„	22	6	18. 3.	14. 4.	2 e, 1—
unverdünnt	„	22	142	2. 8.	20. 8.	4—
„	„	22	142	2. 8.	20. 8.	1 e, 3 st
verdünnt	„	22	142	2. 8.	20. 8.	2 e/k, 2 e
unverdünnt	S. Pfi.	22	6	20. 3.	14. 4.	2 st, 2—
„	„	22	6	20. 3.	14. 4.	3—
verdünnt	„	22	6	20. 3.	14. 4.	1 e/k, 3—
unverdünnt	„	22	142	2. 8.	20. 8.	2 st/e, 2—
„	„	22	142	2. 8.	20. 8.	2 st, 2—
verdünnt	„	22	142	2. 8.	20. 8.	2 st, 2—

Wurden an Stelle der Tumoroberflächenstücke ganze Tumoren zur Herstellung der Auszüge verwendet, so war die Virulenzhemmung nicht so deutlich. Sie war aber die gleiche, wenn ein Auszug aus Rindenstücken der Wurzel, der Nachbarschaft eines Tumors entnommen, hergestellt wurde. Demnach muß der die Virulenz beeinträchtigende Faktor vorwiegend in den Oberflächenschichten des Tumors und dessen näherer Umgebung seinen Sitz haben. Bedeutungsvoll in diesem Zusammenhang sind vielleicht die Feststellungen von P. E. Pinoy (48) und J. Magrou (35), daß die Wurzelkropferreger vorwiegend in der peripheren Gewebezone der Tumoren anzutreffen seien.

In einem Versuch, bei dem ein Teil des Tumorauszuges durch Erhitzen im Dampftopf sterilisiert, der andere nicht erhitzt wurde, zeigte es sich, daß der sterilisierte Tumorauszug keinerlei virulenzschädigende Wirkungen mehr hatte; alle Infektionen waren deutlich angegangen, dagegen waren mit Ra in den nichterhitzten Auszügen 60% der Infektionen erfolglos und bei den restlichen 40% nur stecknadelkopfgroße Tumoren entstanden.

Schon die vorherige Filtration des Tumorauszuges durch ein bakteriendichtes Berkefeld-Filter verminderte die virulenzhemmende Wirkung auf die pathogenen Erreger. Die Ursache liegt hier vielleicht in der zeitlichen Verzögerung hinsichtlich der Verwendung der Auszüge.

Diese Versuche deuten also darauf hin, daß im Tumor von Äpfeln Stoffe vorhanden sein müssen, die die Virulenz von Pseud. tumefaciens weitgehendst zu beeinträchtigen imstande sind. Es wird daher verständlich, warum der überwiegende Teil der in den Tumoren von Kernobstgehölzen vorhandenen Erreger apathogen ist.

Welche Stoffe im Tumor, vor allem in den Randpartien der Tumoren es sind, die hierfür verantwortlich gemacht werden müssen, ist noch ungeklärt. Nach B. I. Longley und Mitarbeitern (34) soll u. a. dem α-Alanin, einem Abbauprodukt des Eiweißes, die Fähigkeit zukommen, allmählich die Pathogenität von Pseud. tumefaciens zu zerstören. Zur Nach-

prüfung wurden deshalb von uns gleichgerichtete Versuche angesetzt, bei denen als Nährsubstrat Bouillon (1: 10 verdünnt) verwandt wurde, die einmal unverändert blieb, zum anderen einen Zusatz von 01, 0,2 und 0,3% α-Alanin erhielt.

Hierfür wurden die Stämme Ra, B. t., S. Pf., 1 Stamm aus Asparagus (= Asp. 4) (74), 1 virulenter Stamm aus Pirus communis (= BW 1) und 1 avirulenter Stamm aus Pirus communis (= B 3) herangezogen.

Die Kulturen wurden alle 3 Tage in eine verdünnte Bouillon umgesetzt, der zu Beginn 0,1% α-Alanin, nach der 10. Kulturgeneration 0,2% und nach der 20. 0,3% α-Alanin zugesetzt wurde. Zur Kontrolle wurden die Stämme alle 3 Tage nur in die verdünnte Bouillon ohne Zusatz übergeimpft. Als Testpflanzen dienten ca. 10 Tage alte Helianthus-Sämlinge (Helianthus annuus gigantea). Die Infektion der Pflanzen erfolgte mit der Injektionsspritze, indem in die jüngsten Zonen des Hypokotyls 1 Tropfen der Nährlösung injiziert wurde. 12—14 Tage nach der Infektion wurden die Tumoren gemessen, wobei Länge, Höhe und Tiefe der entstandenen Tumoren festgestellt wurden.

Tab. 2. Beeinflußbarkeit der Virulenz von Pseud. tumefaciens durch Zusatz von α-Alanin zum Nährsubstrat.

Infektion am	Ra		B. t.		S. Pf.		BW_1		Asp. 4		B_3	
	gewachsen in Nährlösung 1 und 2[1])											
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
16. 9.	0,329	0,75	0,135	0,048	0,375	0,282	0,405	0,48	0,254	0,02	—	—
27. 9.	0,098	0,071	0,017	0,002	0,107	0,147	0,069	0,089	0,057	0,085	—	—
11. 10.	0,305	0,255	0,695	0,048	0,094	0,034	0,318	0,125	0,611	0,068	—	—
25. 10.	±	0,011	0,001	—	0,006	0,004	0,025	—	·/.	±	—	—
11. 11.	0,007	0,019	0,006	—	0,016	±	0,064	±	·/.	±	—	—
27. 11.	0,04	0,062	0,004	0,004	0,013	0,048	0,048	0,011	0,081	0,009	—	—
10. 12.	0,034	0,031	0,002	—	0,04	±	0,032	—	0,04	—	—	—
10. 1.	0,036	0,053	0,011	±	0,035	0,038	0,04	—	0,019	0,01	—	—
1. 2.	0,060	0,032	0,003	±	0,044	0,042	0,022	—	0,068	0,004	—	—

[1]) 1 = Kontrolle, verdünnte Bouillon; 2 = verdünnte Bouillon + α-Alanin: 0,1% (vom 11. 9. bis 8. 10.), 0,2% (vom 11. 10. bis 7. 11.), 0,3% (vom 10. 11. bis 7. 12.); ± = Tumorbildung fraglich; — = unbefallen; ·/. = Pflanzen vorzeitig eingegangen.
[2]) Größe von 4 Tumoren im Mittel in Kubikzentimeter.

Die Tab. 2 zeigt zunächst, daß die Tumoren im allgemeinen in den Wintermonaten viel kleiner bleiben als innerhalb der Vegetationsperiode. Sie zeigt ferner, daß die geprüften Stämme sich verschieden verhielten, und daß gerade der aus Birne isolierte Stamm innerhalb eines Vierteljahres seine Virulenz durch α-Alanin vollständig verloren hatte, während der Stamm Ra sich ebenso wie der Stamm S. Pf. α-Alanin gegenüber recht resistent verhalten hat. Der Smith sche Stamm aus Hopfen zeigte auch bereits eine deutliche Abnahme seines ursprünglichen Virulenzgrades; nicht ganz so stark war die Beeinträchtigung von Stamm Asp. 4. Der apathogene Stamm B 3 war unverändert avirulent geblieben.

Ob α-Alanin, mit dem also tatsächlich eine künstliche Virulenzschwächung erzielt werden kann, auch der in dieser Richtung wirksame Faktor innerhalb von Kernobsttumoren ist, müßte noch näher untersucht werden. Daß es gerade die Stämme B. t. und BW 1 sind, die durch das α-Alanin stärker beeinflußt wurden, ist deshalb hier von Bedeutung, weil ersterer für Kernobst besonders pathogen war und letzterer aus dem Tumor eines Birnenwildlings stammte.

b) auf die unterschiedliche Virulenz an verschiedenen Wirtspflanzen.

Schon E. F. Smith, N. Brown and Townsend (69), E. A. Siegler (68) und viele andere haben auf das je nach Herkunft unterschiedliche Verhalten der Stämme von Pseud. tumefaciens den verschiedenen Wirtspflanzen gegenüber hingewiesen. F. Dame (11) konnte neuerdings zeigen, daß der Virulenzgrad von Pseud. tumefaciens an Solanum lycopersicum, Helianthus annuus oder Datura Tatula ein anderer ist als an Pirus malus oder Pirus communis. Seine Untersuchungen wurden zur gleichen Zeit wie die vorliegenden ausgeführt, jedoch die Prüfungen an Apfel- und Birnenwildlingen auf einem anderen Versuchsgelände vorgenommen. Um so erfreulicher war die Feststellung, daß die Ergebnisse beider Versuche sich im wesentlichen deckten. Da zum Teil andere Stämme und auch anderes Wildlingsmaterial verwendet wurde, seien hier unsere Befunde wiedergegeben:

An Stämmen von Pseud. tumefaciens wurden außer den schon obengenannten Ra, II b, B. t. und S. Pf. noch folgende herangezogen:

Stamm Chrysanthemum frutescens II a	(= II a)
„ aus maukekrankem Wein	(= W I)
„ „ „ „	(= W II)
„ „ Birnenwildling	(= BH 1)
„ „ „	(= Bb 3)
„ „ „	(= B 5)
„ „ Smith aus Weide	(= S. W.)
„ „ „ „ Stachelbeere	(= S. St.)
„ „ „ „ Geißblatt	(= S. Ge.)

Ferner wurde noch der Erreger der „hairy root", Pseud. rhizogenes (= Rhi.), benutzt.

Die einjährigen Apfel- und Birnenwildlinge wurden im Frühjahr 1937 auf dem Versuchsfeld der Biologischen Reichsanstalt aufgeschult und am 8. 7. 1937 am Wurzelhals künstlich infiziert. Die Pflanzen wurden am 10. 11. 1937 dem Boden entnommen und auf Befall genauestens durchgesehen (s. Tab. 3).

Der Stamm Smith aus Hopfen (= B. t.), der an Pelargonien, Tomaten und Stechapfel niemals die Virulenz erreicht, wie z. B. Stamm Chrys. frut. II b oder Dahlia Ra, besitzt sowohl für Apfel wie Birne die größte Pathogenität; für diese beiden ist die Pathogenität von Ra deutlich geringer, während II b an Apfel und Birne völlig avirulent ist. Wenn Stamm Smith aus Pfirsich in unseren Versuchen an 7 Apfelwildlingen avirulent war, so steht dieses Ergebnis nicht im Widerspruch mit dem von Dame, der bei 5 zeitlich verschieden angesetzten Versuchen in einem Falle keinen, in 2 Fällen nur je 1 Wildling von jeweils 10 befallen fand; für Birne zeigte sich der gleiche Stamm hier wie dort pathogen. Auch Stamm Asparagus 4 war nur für Birne pathogen, ebenso wie Stamm W I, W II und vielleicht B 5, doch ist die letztere Feststellung nicht gesichert, da nur eine Pflanze Tumoren hatte und auch unter den 32 Kontrollpflanzen 3 positive waren. Die drei ersteren waren noch pathogen an Pelargonium zonale und Solanum lycopersicum. Die Stämme Rhi., S. Ge. und S. St., die sich an Pelargonien, Helianthus und Tomaten völlig apathogen gezeigt hatten, ließen auch bei Apfel- und Birnenwildlingen keine Wucherungen erkennen.

Tab. 3. Virulenzprüfung verschiedener Stämme von Pseud. tumefaciens an Kernobstwildlingen.

Stämme	Apfelwildlinge Zahl der Pflanzen		Birnenwildlinge Zahl der Pflanzen	
	geimpft	befallen	geimpft	befallen
BH 1	7	0	8	0
Bb 3	7	0	8	0
B 5	7	0	7	1
S. Pf.	7	0	8	5
Ra	6	1	7	4
B. t.	7	3	8	6
S. W.	7	0	8	0
W I	7	0	8	2
W II	6	0	8	3
Asp. 4	6	0	8	4
II a	8	1	8	0
II b	7	0	8	0
Rhi.	7	4±	8	0
S. Ge.	7	0	6	0
S. St.	5	0	7	0
Kontrolle	28	0	32	3

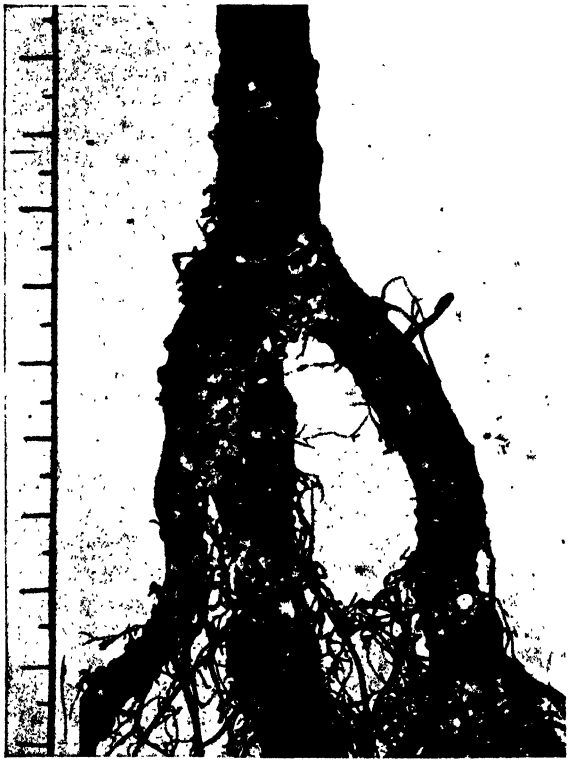


Abb. 1. 2jähriger Apfelwildling mit zahlreichen Lentizellenwucherungen am Wurzelsystem. Aufnahme: November 1937.

3. Infektionsmöglichkeiten und Inkubationsdauer.

Der bakterielle Wurzelkropferreger ist infolge seiner polaren Begeißelung wohl in der Lage, sich im Erdboden aktiv fortzubewegen, er ist aber nicht imstande, in gesundes unverletztes Pflanzengewebe einzudringen. Die Entstehung von Wunden am Wurzelhals oder dem übrigen Wurzelsystem ist daher Voraussetzung einer Infektion. Diese Wunden können auf die mannigfaltigste Weise entstehen. Sie sind z. B. unvermeidlich beim Wurzelrückschnitt, dem „Putzen". Weitere mechanische Verletzungen, vor allem am Wurzelhals — der für die Infektion gefährlichsten Stelle der Pflanze —, werden vielfach durch das „Antreten" der Erde beim Aufschulen ver-

ursacht; sie werden an anderen Teilen der Wurzel auch durch die notwendige Bodenbearbeitung während der Vegetation, z. B. durch Bodenlockerung und Unkrautbekämpfung hervorgerufen. Sehr häufig dürften Beschädigungen tierischen Ursprungs sein, so durch Engerlinge, Drahtwürmer, Larven anderer Insekten und sonstiger tierischer Bodenschädlinge. Daraus erklärt sich auch häufig das flecken- oder nesterweise Auftreten stärksten Wurzelkropfbefalls in sonst gleichmäßigen Kernobstquartieren.

Bei unsachgemäßem Pikieren kann es zu Wurzelkrümmungen kommen, an denen in der Folge Rindenrisse entstehen (17).

Andererseits sind auch ungünstige Feuchtigkeitsverhältnisse des Bodens verantwortlich zu machen für den Kropfbefall. Das zeigen deutlich die Abb. 1 und 2, die erkennen lassen, wie stark die Lentizellenwucherungen z. B. an 2jährigen Apfelwildlingen auftreten können[1]); das zarte Gewebe dieser Wucherungen ist außerordentlich leicht verletzbar, es genügt meistens bereits eine geringe Bewegung der oberirdischen Pflanzen durch den Wind und die Eingangspforten stehen dem Erreger offen. Die nicht selten an einzelnen Wurzeln wie am Wurzelhals zu beobachtenden reihenweise (perlschnurartig) entstehenden Tumoren dürften, zumindest teilweise, durch Infektion durch solche Lentizellenwucherungen bedingt sein (s. auch 17).

Abb. 2. Stück eines 2jährigen Apfelwildlings mit deutlich erkennbaren Lentizellenwucherungen am Wurzelhals.

Daß hinsichtlich des Befalls durch Pseud. tumefaciens auch die Dauer der Wundheilung eine Rolle spielen wird, ist kaum zu bezweifeln, beschränkt sich doch die Möglichkeit der Infektion bei schneller Wundverheilung auf einen ungleich kleineren Zeitraum als bei langsamer. Es sind deswegen auch die Untersuchungsergebnisse von W. Hornbostel (24) von Interesse, nach denen der Wundverschluß bei Apfelwildlingen schon nach 2 Tagen, bei Birnen dagegen erst nach 7—10 Tagen erreicht wird. Die Schlußfolgerung, die Hornbostel aus diesen Feststellungen zieht: „Es könnte also die bekannte geringere Anfälligkeit der Apfelwildlinge gegenüber dem Wurzelkropf auf einer schnelleren Bildung eines wirksamen Wundverschlusses beruhen", ist zwar naheliegend, scheint nach unseren eigenen mehrjährigen Versuchen und Beobachtungen aber zumindest nicht allein die Ursache zu sein. Die Birne besitzt im Vergleich zum Apfel eine wesentlich labilere Konstitution. Das zeigt sich schon beim Anwachsen, der Bewurzelung, der größeren Empfindlichkeit gegen Witterungs-, Düngungs- und Einflüsse anderer, z. B. chemischer Art.

Immerhin dürfte der Feststellung des schnelleren Wundverschlusses bei Äpfeln genügend Bedeutung zukommen, um die Fortsetzung der Untersuchungen in dieser Richtung zu rechtfertigen.

Über die Zeitdauer vom Tage der Infektion durch Pseud. tumefaciens bis zum Sichtbarwerden der durch diesen Erreger ausgelösten Wucherungen liegen für gewisse Pflanzen schon genauere Angaben vor (51, 52, 23, 41). Diese sog. Inkubationsdauer ist nicht allein von der Virulenz des Erregers einerseits und der Wirtspflanze andererseits abhängig, sondern kann auch bei Verwendung des gleichen Bakterienstammes und der gleichen

[1]) Birnen neigen nicht so stark zu Lentizellenwucherungen wie Äpfel.

Wirtspflanze verschieden sein. Diese Verschiedenheiten sind einmal bedingt durch die Art der Verletzung (meristematische Gewebe reagieren viel schneller durch Unterteilung und Wachstum ihrer Zellen als z. B. verholzte), zum anderen durch jahreszeitliche und Witterungseinflüsse auf die Wirtspflanze (51, 52, 59). Bei jungen Helianthus-Keimlingen dauert die Inkubationszeit unter optimalen Bedingungen nur etwa 8—10 Tage, unter ungünstigen, z. B. im Winter im Gewächshaus, dagegen 14—18 Tage. Welche Zeitspanne für die Kernobstwildlinge in Frage kommt und wieweit diese von der Jahreszeit abhängig ist, wurde in einem besonderen Versuch 1937 nachgeprüft.

1jährige Wildlinge wurden auf einem mageren Boden des Versuchsfeldes der Biologischen Reichsanstalt am 10. 4. 1937 aufgeschult und am Wurzelhals mit einem Bakteriengemisch der Stämme Ra, B. t. und S. Pf. zu verschiedenen Zeiten infiziert:

1.	Reihe	infiziert	am	22. 4. 1937
2.	„	„	„	7. 5. 1937
3.	„	„	„	26. 5. 1937
4.	„	„	„	21. 6. 1937
5.	„	„	„	27. 7. 1937

Jede Reihe bestand aus 14 Apfel- und 14 Birnenwildlingen, die in der 1. Reihe von Anfang an in Abständen von 8—14 Tagen auf Infektionserfolg hin geprüft wurden. Dabei wurde so vorgegangen, daß die Pflanzen um den Wurzelhals herum vorsichtig freigelegt und die Erdpartikel an der und um die Infektionsstelle herum mit destilliertem Wasser aus einer Spritzflasche abgespült wurden.

In der ersten Reihe wurde die früheste Tumorentwicklung an den Birnen, und zwar am 29. 5. festgestellt, bei den Äpfeln war sie erst am 8. 6. zu sehen.

In der 2. Reihe war die Inkubationszeit bei beiden kürzer. Sowohl Apfel- wie Birnenwildlinge ließen die ersten Tumorentwicklungen am 8. 6. erkennen.

In der 3. Reihe erfuhr die Inkubation eine noch weitere Verkürzung; bereits bei der ersten Prüfung am 14. 6. waren Infektionserfolge sowohl bei Apfel- als auch Birnenwildlingen vorhanden.

Eine noch kürzere Inkubationszeit erbrachte die Untersuchung der 4. Reihe. Apfel- und Birnenwildlinge hatten am 6. 7., also schon bereits nach 15 Tagen, Wucherungen.

Es erfolgte deshalb die Durchsicht der 5. Reihe auch nicht erst 15 Tage nach der Infektion, sondern bereits am 11. Tage. Doch war nach dieser Zeit der Erfolg bei allen 14 Apfel- und 13 Birnenwildlingen negativ und bei einer Birne noch fraglich; hier war nur ein deutlicher Kallus wahrnehmbar. Bei der nächsten Durchsicht am 17. 8., also weitere 11 Tage später, zeigten bereits 5 Birnen deutliche Wucherungen und 4 waren fraglich, während die ersten sicheren Infektionserfolge bei Apfelwildlingen erst am 17. 9. verzeichnet werden konnten.

Dieser Versuch zeigt also, daß die Inkubationsdauer bei Apfel- und Birnenwildlingen im zeitigen Frühjahr 1937 am längsten war, sich zum Sommer hin verkürzte, Ende Juni/Anfang Juli am kürzesten war und sich von Ende Juli wieder verlängerte. Bei der längeren Inkubationsdauer ließen sich stets bei der Birne die Wucherungen zeitlich früher feststellen als bei Apfel.

Wenn dieser 1jährige Befund auch nicht ohne weiteres verallgemeinert werden darf, so ist doch anzunehmen, daß, abgesehen von mehr oder weniger deutlichen Verschiebungen, durch das jährlich verschieden frühe Einsetzen und die verschieden langen Unterbrechungen der wärmeren Frühjahrswitterung die Ergebnisse in anderen Jahren keine grundsätzlichen Änderungen erfahren werden. Dafür sprechen Untersuchungen von Riker und Hildebrandt (56) in Nordamerika, bei denen ähnliche Ergebnisse erzielt wurden.

Auffallend war auch besonders wieder bei den Birnen, daß die Tumoren, die auf die späteren Infektionen hin, vor allem die vom 26. 5. und 21. 6., entstanden, viel größer wurden als die der frühen Infektionen. Ob das die Regel ist, müßte allerdings noch durch mehrjährige Versuche geklärt werden.

C. „Wanderung" von Pseud. tumefaciens in der Wirtspflanze.

Es ist in der Praxis üblich gewesen, von wurzelkropfbefallenen Pflanzen die Wurzeln, sofern sie zweiter oder höherer Ordnung waren, bis über den Sitz der Kröpfe zurückzuschneiden und die so hergerichteten Pflanzen zum Verkauf zu bringen. Dagegen würde nichts einzuwenden sein, wenn die Sicherheit gegeben wäre, daß damit die bakteriellen Erreger aus der Wirtspflanze entfernt sind. Das würde der Fall sein, wenn Pseud. tumefaciens ausschließlich seinen Sitz im Tumorgewebe hätte. Frühere Untersuchungen von Riker (49, 50), Robinson und Walkden (63), Ivanoff und Riker (27), Hill (22), Hill, Brittingham, Gibbons und Watts (23), Hamdi (21), Suit und Eardley (76) und Stapp (72), haben aber gezeigt, daß Pseud. tumefaciens über größere Strecken vom Infektionsherd aus in gesunden Teilen der Wirtspflanze sich auszubreiten vermag. Die weitesten Strecken, die nachweislich von den Bakterien von der Infektionsstelle aus zurückgelegt wurden, waren bei Tabak 30,5 cm, bei Tomate 40,5 cm: in dieser Entfernung ließ sich durch entsprechende Verletzung bei Tomate noch die Bildung eines Sekundärtumors erreichen. Erneute Versuche über die Wanderung der Bakterien in der Wirtspflanze, die von uns während der Vegetationsperiode 1937 in Dahlem ausgeführt wurden, hatten das beachtliche Ergebnis, daß es gelang, den Erreger in 120 cm Entfernung von der Infektionsstelle aus dem gesunden Gewebe seiner Wirtspflanze zu reisolieren.

Abb. 3a. Datura Tatula infiziert mit Pseud. tumefaciens Stamm Ra am unteren Ende eines kräftigen Triebes am 1. 6. 1937. Trieblänge etwa 150 cm. Aufgenommen am 19. 10. 1937. Reisolierung des Erregers aus dem Stengel in 110 cm Entfernung oberhalb der Tumoren.

Als Versuchspflanze diente Datura Tatula, eine Solanacee, die auf Dahlemer Boden eine Höhe von etwa 180 cm erreicht, wenn zunächst laufend alle Blütenknospen entfernt werden, und die ausgezeichnet auf Impfung mit Pseud. tumefaciens anspricht. Jungpflanzen in Töpfen wurden am 1. 6. 1937 mit Pseud. tumefaciens Stamm Ra an der Basis des

Stengels geimpft und am 21. 6., nachdem die Tumoren sich bereits deutlich entwickelt hatten, ins Freiland verpflanzt. Gleichzeitig wurden gleichaltrige Pflanzen, die nicht infiziert waren, ins Freiland gebracht. Letztere wurden am 6. 8. an den oberen Trieben infiziert.

Am 12. 10. 1937 erfolgte die erste Entnahme (Vorversuch) eines etwa 70 cm langen Stengels, der an seinem unteren Ende einen kleineren Tumor von 2,5 × 1,3 × 0,5 cm Größe trug, eines weiteren Stengels der gleichen Länge mit einem großen Tumor von 7 × 8 × 4 cm und eines dritten Stengels mit einem oberen kleineren Tumor von 2,6 × 2,2 × 1,3 cm Größe.

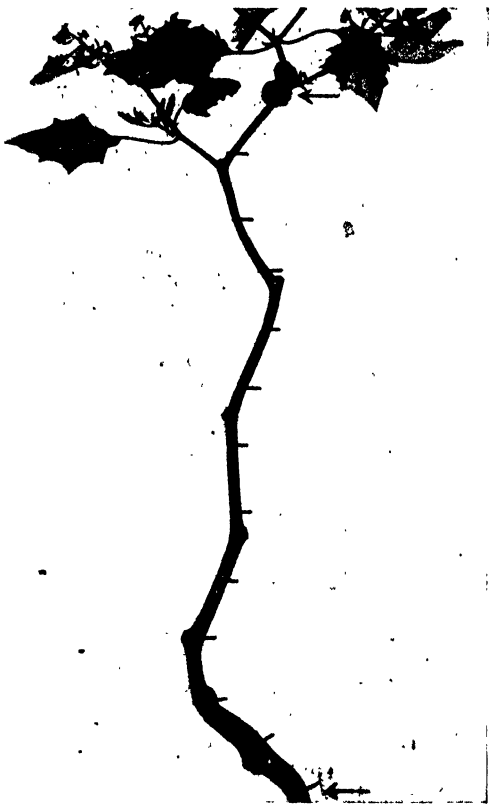


Abb. 3b. Datura Tatula infiziert mit Ps. tumefaciens Stamm Ra an der oberen Triebspitze am 6. 8. 1937. Trieblänge etwa 150 cm. Aufgenommen am 19. 10. 1937. Reisolierung des Erregers aus dem Stengel in 120 cm Entfernung unterhalb der Tumoren.

Aus einer Entfernung von 50 cm ließ sich der Erreger reisolieren.

Am 19. 10. 1937 wurde der Hauptversuch angesetzt. Stengel von etwa 130 bis 150 cm Länge, einmal mit Tumoren am unteren, zum anderen am oberen Ende (siehe Abb. 3 a u. b), wurden in Teilstücke von je 10 cm Länge zerlegt, und von 40 cm oberhalb bzw. unterhalb des Tumors beginnend bis zu Entfernungen von 110 bzw. 120 cm vom jeweiligen Tumor wurde vom oberen Ende jedes Stengelteilstückes eine etwa 1 cm dicke Scheibe unter aseptischen Bedingungen abgeschnitten, um aus dieser Pseud. tumefaciens zu reisolieren.

Mit den jeweils zerkleinerten Gewebestücken wurden Plattengüsse unter Verwendung von Bouillon-Agar hergestellt und die Tumefaciens-ähnlichen Kolonien auf Schrägröhrchen abgeimpft. So erhaltene Kulturen dienten zu erneuten Infektionsversuchen an gesunden Pflanzen von Datura Tatula, die am 16. 11. 1937 ausgeführt wurden. Am 9. 12. 1937 zeigten sich die Impfungen, für die Kulturen aus 100, 110 und 120 cm Entfernung vom Tumor verwendet worden waren, positiv. Da die Abimpfungen der Bakterien aus den Zwischenlagen auf Agar das gleiche Aussehen besaßen wie die aus 120 cm Entfernung isolierten, und uns nicht genügend Datura-Pflanzen zu dieser Jahreszeit zur Verfügung standen, wurde von einer Pathogenitätsprüfung dieser letzteren Stämme Abstand genommen. Außerdem wurde am 12. 11. 1937 noch ein kurzer Stengel (etwa 70 cm) mit oberem und ein etwa 90 cm langer mit unterem Tumor zu den gleichen Untersuchungen herangezogen.

Es gelang auch hier, die Bakterien aus 40, 60 und 80 cm Entfernung vom Tumor aus dem völlig gesunden Gewebe zu reisolieren.

Diese Ergebnisse zeigen wiederum eindeutig, daß die Bakterien sowohl in Richtung des Saftstromes als auch ihm entgegengesetzt sich vom Infektionsherd aus in der Wirtspflanze verbreiten können. Sie zeigen ferner, daß Entfernungen von 100—120 cm nicht dadurch erreicht werden, daß einzelne Keime über so große Strecken hin zufällig versprengt werden, sondern die

Erreger lassen sich aus jeder beliebigen Entfernung zwischen 0 und 120 cm reisolieren.

Es waren von den Versuchspflanzen einige, die am 1. 6. 37 künstlich infiziert worden waren, am 4. 9. 37 oberhalb bzw. unterhalb der Tumoren durch mehrere feine schräge Einschnitte in die Stengel absichtlich verletzt worden. Diese Maßnahme hatte am 20. 10. 37 den Erfolg, daß z. B. in 15, 25, 30, 50, 55 und 85 cm Entfernung vom Primärtumor sich Sekundärtumoren gebildet hatten. Es ist das ein erneuter Beweis erstens dafür, daß sich die Bakterien sehr stark in ihrer Wirtspflanze auszubreiten vermögen und zweitens dafür, daß Sekundärtumoren im allgemeinen nur nach Verletzungen entstehen.

Abb. 3 c. Die beiden Tumoren von Abb. 3 b in etwa halber natürlicher Größe.

In diesem Zusammenhang sei hier noch eine Feststellung erwähnt, die im Verfolg von Tausenden von Infektionen an Datura mehrfach gemacht werden konnte. Oberhalb eines durch künstliche Infektion hervorgerufenen Tumors schwoll, sofern der Tumor etwas unterhalb eines Seitentriebes am Stamm saß, der Seitentrieb einseitig stark an. Wurde letzterer anatomisch untersucht, so zeigte es sich, daß um die Gefäße herum und wahrscheinlich von ihnen ausgehend Zellen des Parenchymgewebes und eines Teiles der Markstrahlen in stärkere Teilung und Vermehrung übergegangen waren. Die Folge davon war eine keilförmige Erweiterung der Markstrahlen nach innen, wie sie in den Abb. 4 und 5 erkennbar sind, die Teile von Querschnitten des Seitentriebes 4 cm oberhalb des Primärtumors darstellen, während Abb. 6 den Querschnitt des gesunden Teiles des Seitentriebes zeigt. Die Zellwucherungen können so stark werden, daß der Stengel in der Längsrichtung aufreißt, worauf die Tumorbildung in dem so zutage liegenden Gewebe fortschreitet. Dadurch kommt es zur Bildung langgestreckter Tumoren, wie solche bei den Reben unter der Bezeichnung „Mauke" bekannt sind. Diese entstehen aber nur bei Verwendung besonders virulenter Stämme von Pseud. tumefaciens.

Nachdem der Nachweis der „Wanderung" der Bakterien in der Testpflanze Datura Tatula über die erhebliche Strecke von 1,20 m ge-

lungen war, mußte untersucht werden, ob das „Abwandern" von Pseud. tumefaciens von der Infektionsstelle aus in gesundes Gewebe auch bei jungen Kernobstgehölzen nachzuweisen ist.

Es war das insofern wesentlich schwieriger, als es sich bei letzteren um Infektionen am Wurzelhals handelte und die zu Isolierungen des Erregers zunächst in Frage kommenden Wurzel- und Stammteile viel rauher und unebener und dadurch viel schwerer zu säubern waren, als die ungewöhnlich glatten Stengel der Datura Tatula. Außerdem war das Gewebe der Obstgehölze wesentlich fester und kleinzelliger. Dazu kam als ungünstiger Umstand weiter, daß aus Apfel- und Birnentumoren isolierte Bakterien von Pseud. tumefaciens zumeist keine Virulenz mehr besitzen.

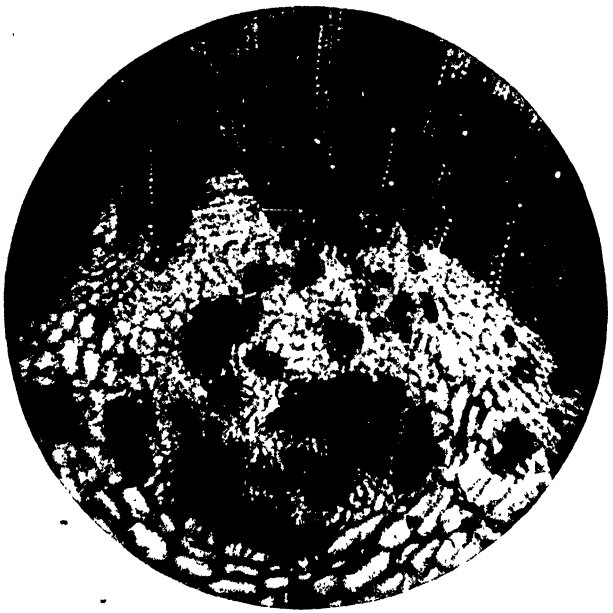


Abb. 4. Querschnitt durch einen einseitig geschwollenen Seitentrieb einer Datura Tatula, 4 cm oberhalb des primären Tumors, auf dem das Tumorgewebe um die Gefäße und im angrenzenden Mark sowie die Stimulation der Markstrahlen zu erkennen sind. Infektion am 6. 12. 1937 mit Stamm B. t. Aufnahme am 9. 1. 1938.

Es wurde eine größere Zahl tumortragender, spontan und künstlich infizierter Apfel- und Birnenwildlinge ausgewählt und in 1 cm Entfernung vom jeweiligen Tumor beginnend die gesunden Wurzelteile oberhalb desselben auf Vorhandensein des Erregers geprüft. Die meisten Versuche mißlangen. Vielfach waren die ersten Platten trotz sorgfältiger Desinfektion der Wurzeloberfläche stark verpilzt. Es gelang immerhin aus spontan infizierten Birnenwildlingen in zahlreichen Fällen in 1—2 cm Entfernung vom Tumor, in mehreren Fällen auch in 2—3, 3—4, 5—6 und in einigen Fällen in 7—8 cm virulente Kulturen von Pseud. tumefaciens zu isolieren.

Methodisch wurde dabei am zweckmäßigsten so verfahren, daß ein etwa 1 cm langes Stück der Wurzel zunächst gut gereinigt, dann mit sterilem Messer völlig entrindet wurde. Das so vorbereitete Stück wurde dann in Eisen-Mangan-Möhrensaft übertragen und aus diesem schließlich der Erreger reingezüchtet.

Aus Birnenwildlingen, die künstlich infiziert waren, gelang auf diese Weise auch die Isolierung aus 10 cm Entfernung vom Infektionsherd aus.

Die Untersuchungsbefunde an Birnenwildlingen beweisen demnach, daß die Möglichkeit der Ausbreitung des bakteriellen Erregers im gesunden Gewebe auch bei Kernobst besteht. Diese Möglichkeit dürfte immer dann gegeben sein, wenn die Verletzungen an den Wurzeln, die eine Infektion durch Pseud. tumefaciens nach sich ziehen, bis zu den Leitbündeln gehen, also beim Wurzelrückschnitt. Sie wird häufig sein bei mechanischen Ver-

letzungen durch die Arbeitsgeräte, kann aber auch bei Engerlingsfraß oder bei Beschädigungen durch andere beißende Insekten u. dgl. vorkommen.

D. Versuche zur Bekämpfung des Wurzelkropfes an Kernobstwildlingen.

1. Mechanische Maßnahmen.

Wenn auch W. O. Gloyer (18) noch 1934 die Ansicht vertreten hat, daß der Wurzelkropf des Kernobstes nur eine lokale Erkrankung darstelle und deshalb in dem Abschneiden der kropfbehafteten Seitenwurzeln eine zweckmäßige chirurgische Bekämpfungsmaßnahme zu erblicken sei, so haben doch unsere Versuche über die Ausbreitung von Pseud. tumefaciens von der Infektionsstelle aus über größere Strecken in „gesunden" Teilen der Wirtspflanzen gezeigt, daß durch Rückschnitt auf das gesunde Holz keineswegs eine absolute Sicherheit für die nunmehrige Infektionsfreiheit der Wirtspflanze besteht.

Wegen der großen praktischen Bedeutung, die dieses Problem für die Baumschulen besitzt, wurden von uns aber Versuche durchgeführt mit dem Ziel, festzustellen, in welchem Ausmaß eine Verminderung des Kropfbefalls durch Ausschnitt der Kröpfe oder durch Rückschnitt kropfbefallener Wurzeln zu erreichen ist und inwieweit sich im letzteren Falle die „latente" Infektion hierbei auszuwirken vermag.

Abb. 5. Querschnitt durch einen einseitig geschwollenen Seitentrieb einer Datura Tatula, 4 cm oberhalb des primären Tumors, die keilförmige Erweiterung eines Markstrahls und die Bildung von Tumorgewebe um die ursprünglich angrenzenden Gefäße zeigend. Infektion am 6. 12. 1937 mit Stamm B. t. Aufnahme am 9. 1. 1938.

Es wurden zunächst vier der Orientierung dienende Versuchsserien angesetzt mit 2jährigen Birnen- und Apfelwildlingen, und zwar in Töpfen von 22—23 kg Inhalt, von denen die Hälfte der Serie in sterilisierter Erde zur Durchführung kam: die Erde bestand aus zwei Drittel Sand und einem Drittel Lauberde. Der zu sterilisierenden Erde in Töpfen wurde, um ein Säuern zu verhindern, 0,075% $CaCO_3$ zugesetzt. Von den Wildlingen wurden nach gründlicher Reinigung mit Wasser alle Tumoren durch Herausschneiden mit sterilem Messer entfernt. Jede Pflanze hatte 2—5 Tumoren.

Serie 1: Pflanzen nach Entfernung aller Tumoren sofort in sterile Erde eingepflanzt.
„ 2: Pflanzen nach Entfernung der Tumoren in 0,5proz. Uspulun-Lehmbrei getaucht, dann in sterile Erde gepflanzt.
„ 3: Wie Serie 1, doch Erde nicht sterilisiert.
„ 4: Wie Serie 2, also Pflanzen zuvor getaucht, jedoch Erde nicht sterilisiert.

Anzahl der Pflanzen in Serie 1 und 4 je 7, in Serie 2 und 3 je 12. Gewächshausversuch angesetzt im Oktober, abgebrochen im November des nächsten Jahres.

In Serie 1 zeigten 78% aller Schnittstellen an den Wundrändern wieder Wucherungen, und zwar fast ausschließlich am oberen oder unteren Randteil, selten seitlich. 22% der Schnittwunden waren gut verheilt. 2 Pflanzen hatten aber auch Tumoren gebildet an Stellen, die beim Versuchsbeginn keine Verletzungen hatten erkennen lassen. Wahrscheinlich lag hier eine „latente" Infektion vor, die sich erst später ausgewirkt hat.

In Serie 2 war die Hälfte der Pflanzen ursprünglich nur mit kleineren Wucherungen versehen, so daß der Erfolg des Herausschneidens sich hier günstig gestaltete. 65% der Schnittstellen waren einwandfrei verheilt. Bei den restlichen 35% waren die neuentstandenen Wucherungen aber größer als in Serie 1, so daß der Eindruck entstand, als ob in allen den Fällen, in denen noch Reste von infiziertem Material stehengeblieben waren, diese durch das Uspulun zu besonders kräftigem Wachstum angeregt worden seien.

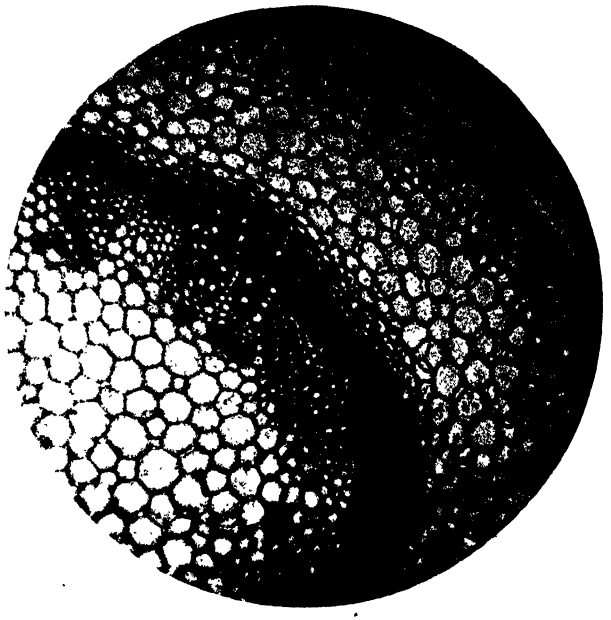


Abb. 6. Querschnitt durch einen normal entwickelten Seitentrieb einer Datura Tatula, 4 cm über dem primären Tumor. Aufnahme am 9. 1. 1938.

In den Serien 3 und 4 in nicht steriler Erde war nur ein geringer Prozentsatz der Pflanzen angegangen, etwa 80% waren abgestorben. Die ungetauchten und die getauchten Wildlinge zeigten bis auf eine Pflanze Wucherungen, wobei auch hier die Uspulunwirkung bei den getauchten Pflanzen wieder deutlich an den größeren Tumoren erkennbar wurde.

Sofern es sich um erst im Entstehen begriffene kleine Tumoren handelt, ist das Herausschneiden des Krankheitsherdes mit Erfolg möglich, bei größeren Wucherungen dagegen nur ausnahmsweise. Bleibt auch nur ein geringer Anteil infizierten Gewebes stehen, so ist die Tauchung in Uspulun-Lehmbrei nicht nur zwecklos, sondern fördert anscheinend noch das Tumorwachstum.

Zu weiteren Versuchen wurde zweijähriges Apfelwildlingsmaterial gewählt, das Kropfbefall nur an den Seitenwurzeln zeigte, sonst aber, insbesondere am Wurzelhals, frei von Kropf war.

Von den befallenen Wurzelteilen wurden die Tumoren und darüber hinaus noch ein 2—3 cm langes Wurzelstück fortgeschnitten. Der Rückschnitt geschah jeweils bei einem Teil der Pflanzen 1. mit einem nicht sterilen Messer, 2. mit einem in 1proz. Uspulunlösung fortlaufend desinfizierten Messer und 3. nach kurzem Eintauchen der Wurzeln in 1proz. wässerige Uspulunlösung mit gleichfalls desinfiziertem Messer. In gleicher Weise zurückgeschnittene gesunde Apfelwildlinge dienten als Kontrollen. Um frische, den „latenten" Krankheitsverlauf überdeckende Wurzelinfektionen von der umgebenden Erde her zu verhindern, wurde ein Teil der Versuchspflanzen in drei

quadratischen, 1 m tief in die Erde eingelassenen, unten offenen Zementkästen, die mit im Erdsterilisator entseuchter Komposterde gefüllt waren, und der restliche Teil auf einem nicht oder sicherlich nur schwach verseuchten Feldstück des Dahlemer Versuchsgeländes aufgeschult. Je Kasten (je 1 qm) wurden 4 Reihen à 7 gesunde Wildlinge aufgeschult, während die Zahl der auf dem Versuchsfeld aufgepflanzten Apfelwildlinge 270 Pflanzen betrug.

Die Wildlinge wuchsen im Freilandboden regelmäßiger und stärker heran als in der sterilen Erde der Zementkästen. Da die kranken Wildlinge durch den stärkeren Rückschnitt ihrer Wurzeln schon geschwächt waren, trieb ein hoher Prozentsatz derselben in der sterilen Erde überhaupt nicht aus.

Tab. 4. Wurzelkropfbefall kranker, aufs „gesunde" Holz zurückgeschnittener Apfelwildlinge nach dem Wachstum in unverseuchtem Freilandboden (Dahlemer Versuche 1936).

Herkunft der Wildlinge	Behandlung der Apfelwildlinge	Zahl der Apfelwildlinge in %			
		gesunde	an diesjährigen Wurzeln befallene	an alten Wurzeln befallene	nicht getriebene
Norddeutsche Baumschule	Rückschnitt mit nicht sterilem Messer	11	32	6	51
Norddeutsche Baumschule	Rückschnitt mit sterilem Messer nach Wurzeldesinfektion	34	22	20	24
Kurmärkische Baumschule	Rückschnitt mit nicht sterilem Messer	5	53	0	42
Kurmärkische Baumschule	Rückschnitt mit sterilem Messer nach Wurzeldesinfektion	22	15	22	41

Abb. 7. Zementkästenversuch in steriler Erde 1936. Apfelwildlinge im Frühjahr mit sterilem Messer zurückgeschnitten. Die drei linken waren gesunde Pflanzen, die drei rechten kranke, deren Wurzelkröpfe mit sterilem Messer entfernt worden waren. Aufgenommen November 1936.

Im Herbst (November) 1936 wurden die Versuche abgebrochen, und die Apfelwildlinge zur Auswertung auf ihren Kropfbefall aus der Erde herausgenommen. Wie Tab. 4 (siehe auch Abb. 7) zeigt, war der Erfolg des Abschneidens der Kröpfe von und mit Teilen der Seitenwurzeln und das Aufschulen in steriler Erde in den Zementkästen entweder gleich Null oder aber außerordentlich gering. Der größte Prozentsatz der ursprünglich kranken Wildlinge war überhaupt eingegangen, der Befall an den frisch entstandenen Wurzeln schwankte zwischen 21 und 35%.

Der teilweise Befall der ehemals gesunden Wildlinge dürfte einerseits auf Infektion infolge des dichten Standes und des dadurch bedingten Übergehens des bakteriellen Kropferregers von den kranken Pflanzen her und andererseits vielleicht durch bereits im Sämlingsalter entstandene „latente" und erst jetzt zum Durchbruch gekommene Infektion zurückzuführen sein. Die Tumorgröße schwankte bei den ehemals gesunden und kranken Apfelwildlingen in gleicher Weise zwischen Erbsen- und Kirschgröße (0,2—2,0 ccm). Die Herkunft der Apfelwildlinge wies keinen Einfluß auf das Krankheitsbild auf.

Da die sterile Durchführung des Rückschnittes sowie die vorherige Desinfektion der Wurzeln in Uspulunlösung auf die Stärke des späteren Befalls in steriler Erde ohne Einfluß geblieben waren, so ließen sich die Tumorbildungen wohl auf die Auswirkung der innerhalb der völlig verseuchten Wurzeln selbst befindlichen virulenten Bakterien zurückführen.

Bei den im Freiland aufgeschulten ehemals kranken Wildlingen (siehe Tab. 5) war dagegen nach der Sterilisation der Wurzeln und des Messers beim Rückschnitt die Zahl der gesunden Pflanzen deutlich höher, als wenn auf diese Desinfektionsmaßnahmen verzichtet wurde. Da aber der durchschnittliche Prozentsatz an eingegangenen Pflanzen in allen 4 Serien relativ hoch war, zeigt sich, daß ein Rückschnitt für die Baumschulen wenig lohnend sein dürfte. Es wird vielmehr am zweckmäßigsten sein, alle kranken Wildlinge beim Umschulen sorgfältig auszulesen und zu verbrennen.

Tab. 5. Wurzelkropfbefall gesunder und kranker, aufs „gesunde" Holz zurückgeschnittener Apfelwildlinge nach dem Wachstum in steriler Erde (Dahlemer Versuche 1936).

Kasten Nr.	Behandlung der Apfelwildlinge	vor dem Rückschnitt	Gesundheitszustand nach Rückschnitt und Wachstum in steriler Erde			
			gesund in %	Befall in % an diesjährigen Wurzeln	Befall in % an alten Wurzeln	nicht getrieben in %
1	Rückschnitt mit nicht sterilem Messer	gesund	43	14	43	0
		krank	0	21	4	75
2	Rückschnitt mit sterilem Messer	gesund	100	0	0	0
		krank	4	35	4	57
3	Rückschnitt mit sterilem Messer n. Wurzeldesinfektion	gesund	57	14	14	15
		krank	0	32	18	50

Die Versuche in den Zementkästen wurden im Jahre 1937 mit 2jährigen Apfel- und Birnenwildlingen diesmal in 6 Kästen wiederholt. An Stelle des Uspuluns wurde jedoch die Desinfektion mit 1proz. Ceresanlösung durch-

geführt und auf nicht getauchte Wildlinge wurde verzichtet. Dagegen wurde die Anzahl der Wildlinge je Kasten erhöht. Um aber feststellen zu können, welcher Prozentsatz ehemals gesunder Wildlinge bereits latent infiziert sein kann, wurde ein Kasten nur mit völlig wurzelkropffreien Apfel- und Birnenwildlingen beschickt; es war hierbei also eine Infektionsübertragung von ehemals kranken und zurückgeschnittenen Wildlingen unmöglich.

Da das uns im Frühjahr 1937 zur Verfügung stehende kranke Material außerordentlich ungleichmäßig war, wurde versucht, geeignetere kranke Kernobstwildlinge aus auswärtigen Baumschulen zu erhalten. Das mißlang; außerdem verzögerte sich dadurch das Auspflanzen bis Ende Mai. Dieser späte Auspflanztermin hatte seinerseits wieder zur Folge, daß die weitaus größte Zahl der Wildlinge nicht anwuchs oder aber im Laufe des Sommers einging.

Eine einigermaßen zuverlässige Auswertung war dadurch unmöglich geworden. So waren z. B. in einem Kasten von 42 vorher stark kranken Apfelwildlingen 39 eingegangen, 2 gesund und 1 befallen, von 28 Birnenwildlingen 16 eingegangen, 9 gesund und 3 befallen.

In dem Kasten mit nur gesundem Kernobstmaterial waren 1jährige Apfel- und Birnenwildlinge und in der Biologischen Reichsanstalt selbst gezogene Sämlinge aufgepflanzt worden. Die Sämlinge waren sämtlich eingegangen, von den 27 einjährigen gesunden Apfelwildlingen waren 11 eingegangen und 16 gesund, von den 36 Birnenwildlingen 23 eingegangen, 12 gesund und 1 befallen. Dieses Ergebnis spricht immerhin dafür, daß die Zahl „latent" kranker Wildlinge wahrscheinlich recht gering sein wird und diese „Latenz" kaum eine Gefahrenquelle für die Verbreitung des Wurzelkropfes wird. Sie ist auch von anderer Seite schon festgestellt worden. So gibt W. O. Gloyer (18) an, daß künstliche Infektionen an Obstbäumen bis zur dritten Vegetationsperiode „latent" sein können.

2. „Physiologische" Maßnahmen.

Kein ernster Forscher wird heute mehr bezweifeln, daß Pseud. tumefaciens die primäre Ursache des Wurzelkropfes ist. Es wird andererseits aber auch nicht bestritten werden, daß der jeweilige Zustand einer Wirtspflanze, ihre Disposition zum mindesten mitentscheidend ist über die Schwere und das Ausmaß ihrer Erkrankung. Daß diese Disposition, teilweise jedenfalls, durch die Ernährung beeinflußbar ist, dafür sind genügend Fälle aus der Human- und Phyto-Pathologie bekannt. Was den speziellen Fall der Wurzelkropferkrankung anbetrifft, so konnte bei einem früheren Versuch mit Zuckerrüben beobachtet werden, daß die Kröpfe derjenigen Rüben, die auf mit organischem Dünger abgedüngtem Feldstück gewachsen waren, durchschnittlich deutlich größere Ausmaße hatten als diejenigen der Rüben, die unmittelbar daneben auf einem Feldstück gezogen waren, das nur eine rein mineralische Düngung erhalten hatte. Dabei war jeweils eine gleiche Anzahl der Rüben im Jugendstadium mit Reinkulturen von Pseud. tumefaciens, Stamm II b und Ra, geimpft worden.

Hier schien ein Einfluß der Düngung vorhanden, es war deshalb zu prüfen, ob sich ein solcher auch bei den Kernobstwildlingen zeigen würde und ob und in welcher Weise im gegebenen Fall sich diese Beeinflussung für das Bekämpfungsproblem nutzbar machen ließ. Eine Änderung der in den deutschen Baumschulen „üblichen" Ernährung dürfte voraussichtlich auch eine Änderung des physiologischen Zustandes der Pflanze nach sich ziehen.

Diese Ernährungsänderung müßte in Richtung einer Abschwächung des Vermögens der Wirtszellen zu intensiver Teilung und Vermehrung nach Wundreiz und Parasiteninfektion erfolgen und wäre dann als „physiologische" Maßnahme anzusprechen.

Wie bei jeder Kulturpflanze durch übermäßige Stickstoffdüngung die Festigkeit des Gewebes beeinflußt wird, so ist das auch bei den Kernobstwildlingen. Diese Überdüngung hat hier insofern noch einen besonderen Nachteil, weil beobachtet werden konnte, daß auch das Wurzelgewebe der Sämlinge „weicher" und wie es schien, von tierischen Schädlingen leichter angegangen wird. Dadurch erhöht sich die Gefahr der Infektion nicht unerheblich.

Da im allgemeinen in den Baumschulen und vor allem denen Norddeutschlands, eine reichliche Düngung als „normal" angesehen wird, wurden die eigenen Düngungsversuche in der Weise angesetzt, daß die Düngermenge nicht mehr gesteigert wurde, sondern außer der „normalen" Gabe an Volldüngung, die Menge an organischem und anorganischem Stickstoff, an Kali, Kalk und Phosphorsäure nach unten mehrfach abgestuft bzw. einige dieser Nährstoffe völlig herausgelassen wurden (s. Tab. 6). Als „normale" Volldüngung wurde folgende zugrunde gelegt: 800—1200 dz Stalldung, 4 dz Thomasmehl bzw. Superphoshat, 3 dz 40proz. Kalidüngesalz, 2 dz schwefelsaures Ammonium und 15 dz kohlensaurer Kalk je Hektar. Daß der Kalk nicht mit dem schwefelsauren Ammon zusammen gegeben wurde, bedarf wohl kaum einer besonderen Erwähnung. Zur Kontrolle dienten ungedüngte Feldstücke.

Tab. 6. Abstufung der Düngergaben für Düngungsversuche auf wurzelkropfverseuchten Freilandparzellen (1936); die Zahlen 1/1, 1/2, 1/4 bedeuten Abstufungen der „normalen" Düngergaben.

Versuch Nr.	Stalldung	Ammonsulfat	40% Kalisalz	Phosphorsäure		Kohlens. Kalk
				Thomasmehl	Superphosph.	
1	1/1	—	—	—	—	—
2	1/2	—	—	—	—	—
3	1/4	—	—	—	—	—
4	1/1	—	—	—	—	1/1
5	1/2	—	—	—	—	1/1
6	1/4	—	—	—	—	1/1
7	1/1	1/1	1/1	1/1	—	1/1
8	—	1/1	1/1	1/1	—	—
9	—	1/2	1/2	1/2	—	—
10	—	1/1	1/1	—	1/1	—
11	—	1/2	1/2	—	1/2	—
20	—	—	—	—	—	—

Mit etwa 30 000 einjährigen Äpfel- und Birnenwildlingen wurden diese Düngungsversuche 1936 in drei norddeutschen und einer kurmärkischen Baumschule durchgeführt. Als Versuchsflächen wurden absichtlich durch vorhergehende Kernobstkultur stärker verseuchte Quartiere ausgesucht, und zwar in einer Baumschule auf einem sandigen Lehmboden, in der zweiten einem lehmigen Sandboden und in zwei weiteren auf humosem Sandboden. Jedes Quartier wurde in 60 Parzellen von 2×2 m = 4 qm Größe mit jeweils 20 cm breiten Trennstreifen unterteilt. Die einzelnen Parzellen wurden in der zweiten Hälfte des Winters nach dem Düngungsplan ge-

düngt[1]) und im April je zur Hälfte mit 50—75 einjährigen, frisch geputzten gesunden Apfel- und Birnenwildlingen bepflanzt.

Während der Vegetationsperiode traten Unterschiede in Wuchs und Entwicklungsstärke weder auf den verschieden stark gedüngten Parzellen im Vergleich zueinander, noch zu denen auf den völlig ungedüngt gebliebenen Kontrollparzellen deutlich sichtbar in Erscheinung. Nur in einer Baumschule schienen die Versuchspflanzen der Volldüngungsparzellen etwas stärker und in der Belaubung etwas dunkler, doch erschwerten bodenbedingte Wuchsunterschiede innerhalb der 3 Parallelparzellen die eindeutige Auswertung. Die wider Erwarten belanglose oder sogar völlig fehlende Auswirkung der verschiedenen Düngung auf allen übrigen Versuchsparzellen ließ erkennen, daß in den Baumschulen infolge der meist alljährlichen kräftigen Düngung noch so reichlich unverbrauchte Nährstoffe im Boden der Kontrollparzellen vorhanden waren, daß weder der einmalige Fortfall der Düngung, noch die unterschiedlich starke Düngung in der Entwicklung der Wildlinge zum Ausdruck kam.

Im Herbst (November) 1936 wurden die Düngungsversuche abgebrochen und die Wildlinge parzellenweise auf Stärke des Wurzelkropfbefalles untersucht. Die Pflanzen der ungedüngten Kontrollparzellen standen in Wuchs und Belaubung, bis auf den fraglichen Einzelfall, denen der mit reichlich Stallmist und mit Stallmist + mineralischer Düngung versehenen Parzellen nicht nach. Ein prozentual hoher Kropfbefall der ersteren war daher nicht verwunderlich, was aber zur Folge hatte, daß eine klare Auswertung der Versuche unmöglich wurde, weil der Befall durch noch höhere N-Gaben nicht mehr gesteigert werden konnte. Wie auf allen natürlich verseuchten Feldstücken sich schon früher bei den Baumschulen größere Schwankungen der Befallsstärke mit Wurzelkropf gezeigt hatten, so traten diese auch in unseren Versuchen zutage. Von Äpfeln waren 29—62%, von Birnen 58—93% kropfkrank. Diese Schwankungen waren also nicht durch die verschiedenartige Düngung bedingt, sondern traten auch auf Parallelparzellen mit gleicher Düngung auf. Von einer Wiederholung dieser Versuche im Jahre 1937 wurde Abstand genommen, denn es war höchst unwahrscheinlich, daß in anderen Baumschulen der Nährstoffgehalt der verseuchten Böden, und nur solche kamen hierbei in Frage, geringer gewesen wäre, als in denen vom Jahre 1936. Das in allen Baumschulen gleichgerichtete Bestreben, das Wildlingsmaterial durch besonders kräftige Düngung der Anzuchtsflächen vor allem mit stickstoffreichen Düngern frühzeitig und weitmöglichst hochzutreiben, ließ uns die Fortführung der Versuche aussichtslos erscheinen, die das Ziel hatten, festzustellen, ob mit geringeren N-Gaben und stärkeren Gaben an Phosphorsäure und Kali oder nur einer der beiden Nährstoffe sich der Spontanbefall herabmindern ließe.

3. Biologische Maßnahmen.

Die Tatsache, daß es Mikroorganismen gibt, die sich mehr oder weniger antagonistisch verhalten, hat schon Sanford (64), Johnson (28), Bamberg (6. 7), Tims (79), Kießling (30) u. a. zu Versuchen veranlaßt, diese Erscheinung der Phytopathologie nutzbar zu machen. Nach orientierenden Versuchen von Kießling z. B. sollte es möglich sein, die Aktinomyceten, die als Schorferreger der Kartoffel bekannt sind, durch nicht

[1]) Das Ammonsulfat wurde als Kopfdüngung im Frühjahr gegeben.

näher bezeichnete Bakterienarten so ungünstig zu beeinflussen, daß bei entsprechender Versuchsanstellung der Schorfbefall der Kartoffeln merklich herabgemindert werden könne. Das experimentum crucis, der Versuch auf natürlich mit Schorferregern infizierten Feldern, steht aber noch aus.

Wenn auch die Wahrscheinlichkeit, auf diesem biologischen Wege zu einem erstrebenswerten Erfolg in der Wurzelkropfbekämpfung zu gelangen, von vornherein nicht sehr groß war, so sollte doch jeder Möglichkeit, zu einer wirksamen Bekämpfungsmaßnahme zu gelangen, durch entsprechende Untersuchungen nachgegangen werden.

Es wurden zunächst eine Reihe saprophytischer Bodenbakterien auf ihr Verhalten gegenüber Pseud. tumefaciens und dann auch eine Anzahl apathogener Stämme von Pseud. tumefaciens gegenüber pathogenen geprüft.

a) Versuche mit saprophytischen Bodenbakterien.

Um in möglichst kurzer Zeit einen Überblick über etwa auftretende Beeinflussungen von Pseud. tumefaciens durch saprophytische Bodenbakterien zu erhalten, wurde folgendermaßen verfahren: Bouillon- oder Apfelsaft-Agar wurde in Petrischalen ausgegossen und ein Impfstrich von Pseud. tumefaciens über die Mitte der Platte und jederseits in etwa 1 cm Abstand von diesem ein Impfstrich eines bestimmten Bodenbakteriums gezogen. Mit Pseud. tumefaciens allein beimpfte Platten dienten zur Kontrolle; von letzteren wurden die Stämme Ra und B. t. verwendet.

Die Petrischalen wurden bei 26° C 4 Wochen lang beobachtet. Aus Tab. 7 ist zu ersehen, daß keines der verschiedenen Bakterienarten die Entwicklung von Pseud. tumefaciens auf der Platte irgendwie behindert hatte.

Tab. 7. Der Einfluß verschiedener nicht pathogener Bodenbakterien auf das Wachstum virulenter Stämme von Pseud. tumefaciens in nebeneinander auf Nähragar angelegten Strichkulturen.

Bakterium	Bakterienwachstum auf Bouillon-Agar	Bakterienwachstum auf Apfelsaft-Agar	Bakterium	Bakterienwachstum auf Bouillon-Agar	Bakterienwachstum auf Apfelsaft-Agar
Ps. tumefaciens	+++	++	Ps. tumefaciens	+++	++
B. tumescens	+++	++	B. myc. (glatt)	+++	+
Ps. tumefaciens	++	++	Ps. tumefaciens	++	++
B. mesentericus	+++	++	B. myc. (rauh)	+++	+—
Ps. tumefaciens	++	++	Ps. tumefaciens	++	++
B. pyocyaneus	+++	+—	B. luteus	++	+
Ps. tumefaciens	+++	+	Ps. tumefaciens	++	++
B. prodigiosus	+++	++	B. subtilis	+	++
Ps. tumefaciens	++	++	Ps. tumefaciens	++	+++
B. fluor. liquefac.	+++	+	B. megaterium	+++	++
Ps. tumefaciens	+++	+	Ps. tumefaciens	+++	++
B. fluor. non liq.	++	—	B. carotarum	+	++
Ps. tumefaciens	+++	++	Ps. tumefaciens	++	++
B. pumilus	+	++	Sarcina flava	+++	+
Ps. tumefaciens	+++	++	Ps. tumefaciens	+++	+

+++ = starkes Wachstum; ++ = mittleres Wachstum; + = schwaches Wachstum; +— = sehr schwaches Wachstum; — = kein Wachstum.

Von der Verwendung flüssiger Nährsubstrate wurde bei diesen Versuchen Abstand genommen, da ein Ausgleich hinsichtlich der Schnelligkeit und Stärke der Entwicklung, z. B. gerade bei den sporenbildenden Bodenbakterien mit Pseud. tumefaciens, nicht zu erreichen gewesen wäre und infolgedessen eine zahlenmäßige

Zurückdrängung von Pseud. tumefaciens bereits nach wenigen Kulturgenerationen gar keine Schlüsse über das etwaige Verhalten dieser gleichen Mikroorganismen zueinander im Boden ermöglicht hätte.

Die Ursachen der antagonistischen oder antibiotischen Wirkung eines Organismenstammes auf den anderen können verschiedenster Art sein, werden in vielen Fällen jedoch in dem abträglichen Stoffwechsel des einen gegenüber dem anderen Partner zu sehen sein.

Um das Vorliegen solcher gegenteiliger Stoffwechselvorgänge besser prüfen zu können, sollte in einem weiteren Versuch derart verfahren werden, daß auf den Agarplatten zunächst je 4 Strichkulturen eines der in Tab. 7 verwandten saprophytischen Bakterien im Abstand von je 2 cm angelegt wurden. Erst nachdem sich diese 24 Std. bei 26° entwickelt hatten, sollten zwischen diese Impfstriche solche von Pseud. tumefaciens gebracht werden. Bei einer Reihe der Saprophyten gelang das technisch einwandfrei. Dabei traten aber ebenfalls keine Beeinträchtigungen der Entwicklung von Pseud. tumefaciens auf. Folgende Bodenbakterien: B. subtilis, B. mycoides, B. luteus, B. carotarum, B. pumilus, B. fluorescens liquefaciens und non liquefaciens breiteten sich aber derart schnell über die gesamte Plattenoberfläche aus, daß ein nachträgliches Anlegen der Impfstriche von Pseud. tumefaciens unmöglich war. Deshalb wurden diese bewachsenen Agarplatten im Dampftopf kurz verflüssigt und nach dem Erstarren mit den Wurzelkropfbakterien beimpft. Sie zeigten auch auf diesen Nährböden keine Wachstumshemmung.

Somit ließ sich bei den saprophytischen Bakterien kein Antagonismus gegenüber Pseud. tumefaciens nachweisen.

b) Versuche mit avirulenten Stämmen von Pseud. tumefaciens.

Bei der Verwendung von avirulenten Stämmen derselben Bakterienspezies zur Prüfung auf ein antagonistisches Verhalten gegenüber virulenten konnten auch Versuche mit Mischkulturen in flüssigen Nährsubstraten zur Durchführung kommen, da hier die Vorbehalte bezüglich ungleicher Entwicklungsgeschwindigkeit und auch ungleicher Ansprüche an das Nährmedium in Wegfall kamen.

Die Versuche wurden in Bouillon, Bouillon-Agar, Möhrensaft, Eisen-Mangan-Möhrensaft, Apfel- und Birnenpflanzenauszug, Apfelfruchtsaft, Erdauszug[1]) und steriler Erde ausgeführt. An pathogenen Stämmen von Pseud. tumefaciens wurden ausgewählt: Ra, II b, B. t. und S. Pf. oder verschiedene Gemische dieser Stämme. Als apathogene Stämme fanden Verwendung: Mehrere aus Apfel- und Birnentumoren sowie aus einem Rosentumor frisch isolierte Stämme, der Stamm S. W., S. St., S. Ge., ein aus der virulenten Kultur von Chrys. frut. II b isolierter Stamm = II b M und zwei avirulent gewordene Stämme aus maukekranken Reben = Re. I und II. Außerdem wurde noch ein apathogen gewordener Stamm von Pseud. rhizogenes, dem Erreger der „hairy-root"-Krankheit der Obstgehölze, mitverwandt. Es wurden mehrere Mischungen gewählt, so bestand z. B.

„G/II" aus 12 avirulenten Birnenstämmen und dem Stamm II b M,
„G/III" „ 11 „ „ einschließlich des Stammes Pi. M.[2]),
„G/IV" „ 4 „ Stämmen von Birnentumor A,
„G/V" „ 3 „ „ „ „ B,
„G/VI" „ 3 „ „ „ „ C,
„G/VII" „ 21 „ „ „ Apfeltumoren,
„R/III" aus einem avirulenten Rosenstamm und einigen nicht näher bestimmten Bakterien, die in einer Kultur als „Verunreinigungen" aufgetreten waren. (Es wurde hierbei also etwas von dem Prinzip, ausschließlich avirulente Stämme von Pseud. tumefaciens zu verwenden, abgewichen.)

[1]) Der Erdauszug wurde durch 2stünd. Extraktion von 200 g Komposterde in 400 ccm Wasser im Autoklaven bei 2 Atü und Verdünnung dieses mit weiteren 400 ccm sterilen Wassers hergestellt.

[2]) Der Stamm Pi. M. ist deshalb besonders benannt, weil er für weitere Versuche bei den chemischen Bekämpfungsmaßnahmen Verwendung gefunden hat.

Von den einzelnen avirulenten Stämmen wurde je eine Platinöse voll gleichaltriger Bouillonagarkultur in 5 ccm sterilen Wassers aufgeschwemmt und von dieser Mischung Abimpfungen auf Bouillonagar hergestellt. Von der so erhaltenen Mischkultur wurden jeweils 0,1—2 ccm Aufschwemmung 5 ccm Nährlösung zugesetzt und außerdem 0,1 oder 0,5 ccm einer wässerigen Aufschwemmung eines virulenten Stammes bzw. Stammgemisches. In Zeiträumen von 7—10 Tagen wurden von den Mischkulturen Abimpfungen (je 1 Öse voll) in frische Nährlösung gemacht, die Kultur 2 Tage bei 26° C gehalten und diese jeweils zu Impfungen in die jüngsten Zonen des Hypokotyls junger Pflanzen von Helianthus annuus nach Entwicklung ihrer Primordialblätter verwandt. Die Impfwirkung wurde 4 Wochen lang verfolgt und die Tumorengröße nach dieser Zeit festgestellt, die sich dann nicht mehr wesentlich änderte.

In der sterilen Erde als Nährboden[1]) wurden die Mischkulturen längere Zeit ohne erneute Überimpfung belassen. Abimpfungen von dieser zum Zwecke der Virulenzprüfung erfolgten in größeren Abständen.

Bei den Prüfungen auf Virulenzverlust mußten außer den Kontrollen zunächst auch die verschieden abgestuften Mischungen der virulenten mit avirulenten Bakterien daraufhin untersucht werden, ob nicht durch die entstehende „Verdünnung" oder andere Faktoren bereits zu Anfang eine nachteilige Beeinflussung der normalen Pathogenität der virulenten Kulturen erfolgt sei. Bis zu einem Mischungsverhältnis pathogener Stämme zu apathogenen von 1:5 zeigte sich keine Beeinträchtigung in der Tumorentwicklung, dagegen nahm in mehreren Fällen bei Mischungsverhältnissen von 1:10 und 1:20 die Tumorentwicklung mehr oder weniger deutlich ab.

Es sollte deshalb geprüft werden, ob die gleichen Wirkungen zu beobachten sein würden, wenn an Stelle des sterilen Wassers, zur Herstellung der Mischkulturen Nährlösungen angewandt würden und ob sich die Wirkung im gleichen Sinne etwa noch verstärken würde, wenn die Mischungen nicht sofort, sondern erst nach einigen Tagen zu Infektionen verwendet würden.

Tab. 8. Graduelle Virulenz-Abnahme bei pathogenen Stämmen von Pseud. tumefaciens in Mischkulturen mit apathogenen Stämmen in verschiedenen Nährlösungen nach einer Kulturperiode von 7—10 Tagen, geprüft an Helianthus annuus.

Bakterienmischkultur in 5 ccm Nährlösung	Nährlösung	Tumorgröße in 3—4 Parallelen			
0,1 ccm Ra (Kontrolle)	Verd. Erdauszug	++++	++++	+++	+++
0,1 ccm Ra + 0,2 ccm G III	„	++++	++++	++++	0
0,1 ccm Ra + 0,5 ccm G III	„	++++	++++	+++	+++
0,1 ccm Ra + 1,0 ccm G III	„	++++	++++	++++	
0,1 ccm Ra (Kontrolle)	Möhrensaft	+++	+++	+++	+++
0,1 ccm Ra + 0,1 ccm G III	„	+++	+++	+++	+
0,1 ccm Ra + 0,2 ccm G III	„	+++	+++	+++	0
0,1 ccm Ra + 0,3 ccm G III	„	+++	+++	+++	+++
0,1 ccm Ra + 0,5 ccm G III	„	++	++	++	++
0,1 ccm Ra + 1,0 ccm G III	„	++	++	++	
0,5 ccm Ra (Kontrolle)	Bouillon	++++	++++	+++	
0,5 ccm Ra + 0,1 ccm G III	„	++++	+++	+++	
0,5 ccm Ra + 0,3 ccm G III	„	++	++	+	
0,5 ccm Ra + 0,5 ccm G III	„	+++	0	0	
0,5 ccm Ra + 1,0 ccm G III	„	+++	+	+	

++++ = Tumorgröße über 200 cmm; +++ = Tumorgröße 50—200 cmm; ++ = Tumorgröße 10—50 cmm; + = Tumorgröße 1—10 cmm; 0 = keine Tumorbildung.

[1]) Es wurden je 40 g eines lehmigen Sandes nach Zusatz von 0,05% $CaCO_3$ und Befeuchtung in 100 ccm Erlenmeyer-Kolben im Autoklaven sterilisiert und dann mit Bakterienmischung beimpft.

Wie Tab. 8 erkennen läßt, ist das Ergebnis je nach Nährsubstrat verschieden. So zeigte sich nach Züchtung in Erdauszug keine Virulenzabnahme mit ungünstiger werdendem Mischungsverhältnis der pathogenen zu den apathogenen Bakterien, bei Verwendung von Möhrensaft war eine geringe Virulenzabnahme festzustellen und mit Bouillon war sie verstärkt, zumal hier von 0,5 ccm Ra ausgegangen wurde. Gewisse Unregelmäßigkeiten in der Virulenzbeeinflussung innerhalb der gleichen Parallelen sind bei biologischen Untersuchungen unvermeidlich und können die verschiedensten Ursachen haben. Wie in Erdauszug verhielten sich die Bakterienmischungen auch in Birnenstammauszug und in Apfelsaft, die Ergebnisse in Möhrensaft waren die gleichen wie in Eisenmangan-Möhrensaft. Diese Befunde sind deswegen in der Tabelle nicht gesondert aufgeführt. Weitere Prüfungen von Mischkulturen avirulenter mit virulenten Stämmen, wobei u. a. als avirulenter Stamm der S. St. und als virulente Stämme Gemische von Ra und S. Pf. verwendet wurden, in verdünnten Erdauszügen ergaben stets eine mindestens ebenso hohe Virulenz noch bei einem Mischungsverhältnis von 1:10, wie sie bei den entsprechenden virulenten Stämmen allein gegeben war, vielfach war dieselbe aber noch gesteigert. Deshalb trat die Vermutung auf, daß apathogene Bakterien in dieser Mischung ihre pathogenen Eigenschaften wiedererlangt hätten.

Eine deutliche Virulenzabnahme war in Bouillon zu verzeichnen; bei Wiederholungen mit dem gleichen Gemisch traten jedoch stets starke Schwankungen auf. Mit anderen Gemischen apathogener Stämme, z. B. mit Ge-

Tab. 9. Graduelle Virulenz-Abnahme bei pathogenen Stämmen von Pseud. tumefaciens in Mischkulturen mit apathogenen Stämmen in steriler Erde.

1. Versuch angesetzt am 19. 1. 1937.

Bakterienmischkultur in 40 g steriler Erde	Tumorgröße bei Impfung von Helianthus am 29. 1. 1937				24. 2. 1937			
0,1 ccm Ra (Kontrolle)	+++	+++	+	—	++++	++++	+++	+++
0,1 ccm Ra + 0,2 ccm G III	+++	+	0	—	++	0	0	0
0,1 ccm Ra + 0,4 ccm G III	+++	0	0	—	++++	++	0	0
0,1 ccm Ra + 0,7 ccm G III	+++	0	0	—	0	0	0	0
0,1 ccm Ra + 1,0 ccm G III	0	0	0	—	0	0	0	0

2. Versuch angesetzt am 5. 7. 1937.

Bakterienmischkultur in 40 g steriler Erde	Tumorgröße bei Impfung von Helianthus am 24. 7. 1937				20. 9. 1937			
0,1 ccm Ra (Kontrolle)	++++	++++	+++	+++	++++	++++	+++	+++
0,1 ccm Ra + 0,2 ccm G III	+++	+	+	+	+++	++	+	—
0,1 ccm Ra + 0,4 ccm G III	++++	+++	++	++	+++	+++	+	—
0,1 ccm Ra + 0,7 ccm G III	++++	++++	+	—	+++	+++	+++	+++
0,1 ccm Ra + 1,0 ccm G III	++++	+++	+	+	+++	++	++	—
	13. 12. 1937				14. 2. 1938			
0,1 ccm Ra (Kontrolle)	+++	+++	+++	—	++++	++++	+++	—
0,1 ccm Ra + 0,2 ccm G III	±	±	±	0	++	±	±	±
0,1 ccm Ra + 0,4 ccm G III	±	±	0	0	0	0	0	0
0,1 ccm Ra + 0,7 ccm G III	++	+	±	±	+++	++	+	0
0,1 ccm Ra + 1,0 ccm G III	+	+	+	±	++	+	0	0

Tab. 10. Graduelle Virulenz-Abnahme bei pathogenen Stämmen von Pseud.

1. Versuch angesetzt

Bakterienmischkultur in 40 g steriler Erde	Tumorgröße 7. 5. 1937				30. 6.	
0,1 ccm Ra (Kontrolle)	+++	+	+	+	++++	++++
0,1 ccm Ra + 0,2 ccm G VII . .	+++	+	+	+	+	+
0,1 ccm Ra + 0,4 ccm G VII . .	+	0	0	—	+++	+++
0,1 ccm Ra + 0,7 ccm G VII . .	+++	+++	+	0	+++	+
0,1 ccm Ra + 1,0 ccm G VII . .	+	0	0	0	++	++

2. Versuch angesetzt

Bakterienmischkultur in 40 g steriler Erde	Tumorgröße 24. 7. 1937				25. 8.	
0,1 ccm Ra (Kontrolle)	++++	++++	++++	++++	++++	++++
0,1 ccm Ra + 0,2 ccm G VII . .	++	+	0	0	+	±
0,1 ccm Ra + 0,4 ccm G VII . .	±	0	0	0	+	±
0,1 ccm Ra + 0,7 ccm G VII . .	0	0	0	0	±	0
0,1 ccm Ra + 1,0 ccm G VII . .	±	0	0	0	0	0

Tab. 11. Graduelle Virulenz-Abnahme bei pathogenen Stammen von Pseud.

Versuch angesetzt

Bakterienmischkultur in 40 g steriler Erde	Tumorgröße 30. 8. 1937					19. 10.
0,1 ccm Ra (Kontrolle)	++++	++++	++++	++++	++++	++++
0,1 ccm Ra + 0,1 ccm R III . . .	++++	+++	+++	±	±	0
0,1 ccm Ra + 0,3 ccm R III . . .	+++	+++	±	0	+	±
0,1 ccm Ra + 0,6 ccm R III . . .	++	0	0	0	±	0
0,1 ccm Ra + 0,9 ccm R III . . .	+++	+++	0	—	±	0

misch G/IV, G/V, G/VI oder mit Stamm S. St. war die Virulenzabnahme geringer.

In einem Gemisch von Stamm Ra und II b als virulente und 11 neugezüchteten Birnenstämmen als avirulente Kulturen (= G/VIII) gelang es dagegen innerhalb von 4 Wochen eine restlose und dauernde Einbuße der Virulenz zu erreichen. Wodurch die Minderung der Virulenz oder ihr Verlust verursacht ist, kann nicht gesagt werden. Es ist möglich, daß hier allein stoffwechselphysiologische Einflüsse vorliegen, es ist jedoch nicht zu entscheiden, ob die pathogenen Bakterien ihre Virulenz im Zusammenleben mit den apathogenen ständig von neuem verlieren oder dauernd eingebüßt haben, oder ob sie mit der Zeit völlig von apathogenen Bakterien verdrängt werden, da sie doch morphologisch und in ihren Kolonieformen sich nicht unterscheiden lassen.

Hinsichtlich der praktischen Bedeutung der Virulenzhemmung durch avirulente Bakterien von Pseud. tumefaciens war das Verhalten der Mischkulturen in steriler Erde als Nährboden von besonderem Interesse. Wie einige Beispiele (s. Tab. 9—11) zeigen, wurde die Virulenz der Mischkulturen hierin nicht wie in verdünnten Erdauszügen gesteigert, sondern wie in Bouillon im Laufe der Kultur verringert. So verlor der sehr

t u m e f a c i e n s in Mischkulturen mit apathogenen Stämmen in steriler Erde.
am 23. 4. 1937.

bei Impfung von Helianthus am									
1937		16. 9. 1937				7. 10. 1937			
++++	+++	++++	++++	++	+	+++	+	+	—
+	0	+++	+	±	0	0	0	0	0
+	+	0	0	0	—	0	0	0	—
+	—	±	±	0	0	0	0	0	0
0	0	++	++	+	±	±	0	0	0

am 5. 7. 1937.

bei Impfung von Helianthus am									
1937		20. 9. 1937				1. 11. 1937			
++++	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
±	0	+	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	—
0	0	0	0	0	—	0	0	0	—

t u m e f a c i e n s in Mischkulturen mit apathogenen Stämmen in steriler Erde.
am 5. 7. 1937.

bei Impfung von Helianthus am									
1937		13. 12. 1937				14. 2. 1938			
++++	+++	+++	+++	+++	+++	++++	+++	+++	+++
0	0	±	±	±	0	±	0	0	0
0	0	±	±	0	0	0	0	0	—
0	0	+	±	±	±	0	0	0	—
0	0	±	±	±	0	0	0	0	0

virulente Stamm Ra in Mischung mit G III, G VII und R III allmählich vollkommen seine Virulenz. Ein solcher völliger oder auch nur partieller Virulenzverlust in Mischkulturen war in steriler Erde mit größerer Sicherheit und in stärkerem Grade als in Bouillon oder in jedem anderen benutzten Nährmedium festzustellen.

In der sterilen Erde nahm gelegentlich jedoch auch die Virulenz der Reinkulturen von pathogenen Stämmen ab, und zwar bis zum völligen Schwund nach 3—4 Monaten, während die Bakterien selbst, wie Übertragungen aus der Erde in Bouillon zeigten, noch weiterhin lebens- und wachstumsfähig waren. Nach P a t e l (44) kann die Lebensdauer von P s e u d. t u m e f a c i e n s in sterilisierter Erde im Laboratorium bis zu 736 Tagen betragen. In unseren Fällen trat aber der Virulenzverlust in Mischkulturen stets viel früher auf als in Reinkulturen. Es mußte also der Einfluß der avirulenten auf die virulenten Bakterien zumindest in einer Beschleunigung der Virulenzabnahme der pathogenen Stämme in steriler Erde durch die Zusammenkultivierung mit avirulenten Stämmen bestehen.

Immerhin ermutigten die Gesamtergebnisse hinsichtlich des Virulenzverlustes in sterilisierter Erde zur Fortsetzung der Versuche im nicht sterilisierten, also tätigen Boden, um die Wirksamkeit dieses „biologischen"

Weges in der praktischen Bekämpfung des Wurzelkropferregers kennenzulernen. Zunächst wurden deshalb Topfversuche im Gewächshaus durchgeführt. Blumentöpfe von 10 cm Durchmesser wurden mit Komposterde gefüllt und mit je 1 ccm Ra-Aufschwemmung (Kontrollversuch) bzw. mit einer Mischung von 1 ccm Ra-Aufschwemmung + 5 ccm Aufschwemmung von G III oder G/VII beimpft und nach 3 Wochen mit Tomatenstecklingen bepflanzt. Leider wurde jeweils nur ein geringer Teil der Versuchspflanzen in den mit Ra-Reinkulturen wie auch Ra-Mischkulturen beimpften Töpfen mit Tumoren an der ehemaligen Schnittfläche befallen, so daß eine zahlenmäßige Versuchsauswertung nicht möglich war. Immerhin schien es, als ob bei Verseuchung des Bodens mit Mischkulturen ebensoviel Kropfbefall wie mit virulenten Kulturen allein auftrat. In einem weiteren Versuch wurden zwei Anzucht-Tonschalen mit sandiger Erde gefüllt, je eine mit einer Ra-Reinkultur und einer Ra-Mischkultur (1: 5) wie oben beimpft und nach 1 Monat mit mehreren Tomatenstecklingen bepflanzt und unter einer Glasglocke feucht gehalten. Die Ra-Mischkultur wies nach 2 Monaten auch in der sandigen Erde keine geringere Virulenz auf als die Ra-Reinkultur. Topfversuche mit Mischkulturen aus anderen virulenten Stämmen (B. t., S. Pf.) und anderen avirulenten Gemischen (G/I, G/II, G/III) ließen sich leider nicht auswerten, da aus späteren Versuchen hervorging, daß die gerade hierzu als Testpflanzen benutzten Pelargonienstecklinge ziemlich widerstandsfähig gegen Pseud. tumefaciens waren.

Von weiteren Topfversuchen wurde deshalb Abstand genommen und die Ergebnisse der Freilandversuche abgewartet, die im Frühjahr 1937 auf zuvor absichtlich stark verseuchten Parzellen des Versuchsfeldes der Biologischen Reichsanstalt angesetzt waren.

Tab. 12. Biologischer Wurzelkropf-Bekämpfungsversuch im Freiland.

Parzelle Nr.	Obst-gehölz	gesund %	krank %	Ausfall %	Durchschnittslänge in cm	Tumorgröße
			Kontrolle			
5	Apfel	38	50	12	40	e—k
47	„	21	67	12	100	e—k
63	„	33	54	13	60	k—w
5	Birne	6	78	16	25	k—w
47	„	3	88	9	60	k—w
63	„	12	65	13	25	k—w
			Avirulente Bakterienkulturen, Ende März 1937			
14	Apfel	29	58	13	45	k
64	„	37	50	13	65	k
74	„	0	100	0	60	w
14	Birne	15	85	0	25	k
64	„	12	75	13	30	k
74	„	0	79	21	30	w
			Avirulente Bakterienkulturen, Anfang April 1937			
1	Apfel	38	50	12	35	e—k
8	„	21	67	12	25	e
82	„	4	79	17	100	k—w
1	Birne	22	72	6	20	e—k
8	„	9	69	22	20	e—k
82	„	0	87	13	50	w

e = erbsengroßer Tumor; k = kirschgroßer Tumor; w = walnußgroßer Tumor.

Parzelle 14, 64 und 74 wurden im März, Parzelle 1, 8 und 82 im April 1937 mit avirulenten Bakteriengemischen behandelt, und zwar erhielten

Parzelle	14	am	25. 3.:	3,0	l	und	am	31. 3.:	4,5	l von G/III
„	64	„	20. 3.:	1,5	l	„	„	23. 3.:	3,0	l , G/II, III u. VIII
„	74	„	25. 3.:	3,0	l	„	„	31. 3.:	3,0	l , G/VII
„	1	„	5. 4.:	5,0	l	„	„	7. 4.:	4,0	l , G/VII
„	8	„	5. 4.:	2,5	l	„	„	8. 4.:	4,0	l , G/III
„	82	„	5. 4.:	2,3	l	„	„	7. 4.:	4,0	l , G/III

Am 9. 4. erfolgte die Aufschulung von je etwa 25—30 einjährigen Apfel- und ebenso vielen Birnenwildlingen auf alle 6 Parzellen.

Das Ergebnis ist in Tab. 12 niedergelegt und läßt erkennen, daß im verseuchten tätigen Boden im Gegensatz zu den Befunden in zuvor sterilisierten Böden keinerlei Virulenzabschwächung erreicht worden war.

Der hier eingeschlagene Weg der Bekämpfung durch „biologische" Maßnahmen erwies sich also, trotz der aussichtsreichen Ergebnisse im sterilen Boden, nicht als gangbar.

4. Chemische Maßnahmen.

Da dem Befall des Kernobstes durch den Erreger des Wurzelkropfes unter den z. Zt. in den deutschen Baumschulen herrschenden Verhältnissen durch Düngung nicht gesteuert werden kann, auch eine wirksame Bekämpfung auf mechanischem oder biologischem Wege nicht zu erreichen war, blieben noch zwei Möglichkeiten offen; bei der ersten handelt es sich um die Frage der Bekämpfung mit chemischen Mitteln, bei der zweiten um die am idealsten erscheinende Maßnahme, nämlich die Verwendung gegen Pseud. tumefaciens resistenter Kernobstunterlagen, falls es solche geben sollte oder sich durch zielbewußte Züchtung solche gewinnen ließen.

Es sei vorweg gesagt, daß der zweiten Möglichkeit in einer gesonderten Arbeit zu gleicher Zeit nachgegangen worden ist, weshalb auf diese hier nur verwiesen sei [siehe F. Dame (11)].

Es verblieben also die chemischen Maßnahmen, die sich ihrerseits wieder in zwei Richtungen bewegen können. Die eine müßte in der gleichmäßigen Entseuchung der gesamten Kulturfläche bestehen, die andere in dem Schutz der gefährdeten Pflanze innerhalb des verseuchten Bodens. Zweifellos wäre dem ersteren Wege der Vorzug zu geben, wenn er eine vollständige Desinfektion des Bodens gewährleisten würde. Abgesehen davon, daß Bodenentseuchungsverfahren, wenn überhaupt durchführbar, z. Zt. mit sehr großen Kosten verbunden und außerdem immer mit gewissen Mängeln und Unsicherheiten behaftet sind, ist bisher überhaupt kein chemisches Desinfektionsmittel bekannt geworden, das sich gegen bakterielle Krankheitserreger im Boden als zuverlässig erwiesen hätte. Infolgedessen ist bei den bisherigen Maßnahmen der Wurzelkropfbekämpfung in Deutschland auch der zweite Weg gewählt worden.

Dabei wird, wie eingangs erwähnt, so verfahren, daß die Pflanzen mit ihren Wurzeln bis über den Wurzelhals in einen mit geeignetem Desinfektionsmittel versehenen Lehmbrei getaucht werden. Es wird dadurch erreicht, daß frische Wunden, insbesondere die durch den üblichen Rückschnitt vor dem Einschlagen oder Aufschulen verursachten, vor Infektion vom verseuchten Boden aus geschützt werden. Als Desinfektionsmittel hat sich das von H. R. Oppenheimer (42) erprobte Uspulun bisher im allgemeinen in Deutschland gut bewährt. Bei der Anwendung dieses sog. Tauchverfahrens darf jedoch nicht übersehen werden, daß die Wirkung nur von begrenzter Dauer ist und ein späterer Befall alter oder neugebildeter Wurzeln bei Verletzungen mechanischer Art oder durch tierische Beschädigungen nicht verhindert werden kann.

Die Einwände Hornbostels (24) gegen das Verfahren dürften, wie die Praxis das einwandfrei ergeben hat, jedoch ungerechtfertigt sein. Er sagt 1938: „Auch bei Anwendung des ‚Uspulunlehmhöschen-Verfahrens' sind die äußersten Wurzelenden an denen sich die ‚Putzstellen' befinden, am wenigsten geschützt, da an der glatten Schnittfläche der Lehmbrei weniger gut haftet und beim Einbringen der Wurzeln in die Erde leicht abgestreift wird. Es bilden sich infolgedessen an den Schnittstellen Tumoren, die sich, da sie an einer für den jungen Baum wichtigen Stelle, dem Ausgangspunkt der Neubewurzelung, auftreten, nachteilig für die weitere Entwicklung der Wildlinge auswirken." Die frische Schnittfläche nimmt beim richtigen Tauchen soviel Lösung in das Gewebe auf, daß Wurzelkröpfe an den Schnittstellen getauchter Pflanzen äußerst selten sind.

Die nachfolgenden Untersuchungen nun sollten dazu dienen, festzustellen, ob sich erstens nicht doch noch ein gegen Pseud. tumefaciens gerichtetes, wirtschaftlich tragbares Bodendesinfektionsmittel finden ließe und zweitens, falls das nicht gelingen sollte, ob durch gleichzeitige Anwendung eines nur vorübergehend wirksamen Bodendesinfektionsmittels und des Tauchverfahrens sich nicht eine Infektionsverhütung, wenigstens während einer Vegetationsperiode, erreichen ließe. Bekanntlich ist der Schaden durch die Infektion mit Pseud. tumefaciens um so größer, je jünger die Pflanzen zur Zeit des Befalls sind. Bei der im Jugendstadium zumeist wiederholt durchgeführten Umschulung wäre dann das Kombinationsverfahren jedesmal wieder durchzuführen. Drittens sollte geprüft werden, ob das quecksilberreiche Präparat „Uspulun-Saatbeize" im Tauchverfahren nicht durch andere ebenso wirksame ersetzt werden könnte, deren Herstellung aus vorwiegend heimischen Rohstoffen möglich wäre.

Über die Bekämpfung von Pseud. tumefaciens auf chemischem Wege liegen bisher Untersuchungen vor von McClintock (38), Riker und Keitt (57, 58), Sherbakoff (66, 67), Oppenheimer (42), Waite und Siegler (80), Woloschinowa (83), Gleisberg (16, 17), Husz (25, 26), Bouman (9), Kapshuk (29), Niemeyer (41), Riker, Ivanoff und Kilmer (61), Barbacka (8) u. a. (1, 3, 2). Untersucht wurden z. B. als Bodendesinfektions- oder Tauchmittel Schwefel, Schwefelkohlenstoff, Schwefelkalkbrühe, Quecksilberchlorid, Quecksilbercyanid, Formalin, Phenol, Steinkohlenteer, Chlorpikrin, Chlorkalk, Paradichlorbenzol, Kalziumchlorid, Kalziumsulfat, Kupfersulfat, Kupferkalkbrühe, Eisensulfat, Bariumchlorid, Bleinitrat, Mangansulfat, Kaliumpermanganat, Lithiumkarbonat, Salzsäure, Essigsäure, Uspulun (bzw. Hydroxymercurichlorophenol), Germisan, Neu-Segetan, Hygosan, Tillantin und Bigriol.

Über günstige Ergebnisse wird berichtet bei Anwendung von Schwefel, Sublimat, Uspulun, Kalziumsulfat, Chlorpikrin und Salzsäure.

a) Laboratoriumsversuche.

Zunächst wurde von uns eine größere Anzahl von chemischen Mitteln, darunter auch solche, die bereits gegen andere pflanzliche oder tierische Schädlinge mit Erfolg erprobt waren, wie z. B. Formalin, Phenol, Natriumfluorid, auf ihre bakterizide Wirkung gegenüber Pseud. tumefaciens im Laboratorium geprüft. Bei der Auswahl der zu den Untersuchungen ausgewählten Mittel wurde auch ihre Wirtschaftlichkeit bei Anwendung auf größeren Freilandflächen in Betracht gezogen.

Material und Methodik: Von folgenden Mitteln wurde die jeweilige dosis letalis für Pseud. tumefaciens festgestellt.

1. Säuren bzw. säurebildende Mittel:
   a) Anorganische Säuren:
      Borsäure
      Schwefelsäure
      schwefligo Säure (aus Natriumthiosulfat + saurem Natriumsulfat oder konzentrierter Schwefelsäure)
      elementarer Schwefel
      Ammonium- und Kaliumpersulfat + Essigsäure (Perschwefelsäure)
   b) Organische Säuren:

Ameisensäure	Oxalsäure
Essigsäure und Holzessig	Weinsäure
Trichloressigsäure	Zitronensäure
Milchsäure	Pikrinsäure
Bernsteinsäure	

2. Verbindungen von Alkali und alkalischen Erden:

Natriumhydroxyd	Natriumsulfid
Kaliumhydroxyd	Natriumsulfit
Kalziumhydroxyd	Natriumfluorid
Chlorkalk	Kaliumpermanganat

3. Sonstige Mittel:

Formalin	Zinksulfat
Phenol	Quecksilberchlorid
p-Nitrophenol	Uspulun-Saatbeize
Chlorphenol	Uspulun-Universal
Chloramin	Ceresan-Naßbeize (U 564 a)
Chinosol	Abavit-Naßbeize
Zephirol	Brassicol
Aluminiumsulfat	Raphanit
Kupfersulfat	

Versuche. Es erschien zunächst von Wichtigkeit, die für Pseud. tumefaciens lebensnotwendige Wasserstoffionenkonzentration des Nährbodens zu kennen, um vielleicht durch eine absichtliche Verschiebung der Bodenreaktion bereits eine Wachstumshemmung der Bakterien zu erreichen. Da Bakterien allgemein gegen Reaktionsänderungen des Mediums nach der sauren Seite hin empfindlicher sind als nach der alkalischen Seite, so wurden in größerem Umfange Versuche mit anorganischen und organischen Säuren in dieser Richtung durchgeführt.

Nach Chambers (10) liegt das Optimum der [H·] für Pseud. tumefaciens um den Neutralpunkt herum, das Minimum bei p_H 8 und das Maximum oberhalb p_H 6,2. Pinckard (47) gibt in flüssigen Nährlösungen als Maximum p_H 3,6—4,4 und als Minimum p_H 9,5—10,5 an.

Methodisch wurde derart verfahren, daß 1 ccm einer Chemikalienlösung bestimmter, aber wechselnder Konzentration jeweils 8 ccm verdünnten Möhrensaftes (1 Teil Saft + 1 Teil Wasser) oder verdünnten Fleischwassers (1 Teil Fleischwasser + 3 Teile Wasser) steril zugesetzt wurde. Die als Kontrollen dienenden Nährlösungen erhielten die gleiche Menge an Wasser. Dann wurden alle Röhrchen mit je einem Tropfen einer flüssigen Kultur von Pseud. tumefaciens beimpft, die durch Abschwemmen einer 2tägigen Bouillon-Schrägagarkultur mit 5 ccm Wasser frisch hergestellt war. Hierzu wurden die Stämme II b, Ra sowie ein neuer, aus einem Birnentumor isolierter Stamm Pirus M (= Pi. M) zur Prüfung verwendet. Die Röhrchen wurden zunächst einige Tage bei 26° C, dann bei Zimmertemperatur aufgestellt und mindestens 4 Wochen lang auf Bakterienentwicklung makro- und gegebenenfalls auch mikroskopisch beobachtet und kontrolliert. Pseud. tumefaciens wuchs in weißen, flockigen Fäden von der Flüssigkeitsoberfläche in der Regel keilförmig in die Tiefe, was besser in Möhrensaft als in Fleischwasser zu verfolgen war.

Alle diejenigen Mittel, die auf Grund günstiger Ergebnisse in Nährlösungen für weitere Versuche in Betracht kamen, wurden ferner auf

ihre bakterizide Wirkung auch in steriler Erde zur Prüfung herangezogen.

Hierzu wurden Erlenmeyer-Kolben aus Jenaer Glas von 100 ccm Inhalt mit 50 g eines lufttrockenen Baumschulbodens (lehmiger Sand) gefüllt und 2 Std. lang im Autoklaven bei 1,5 Atü sterilisiert. Um ein Absinken des p_H-Wertes im Boden durch die Sterilisation zu verhindern, wurde dem mit 5 ccm Wasser angefeuchteten Boden vorher kohlensaurer Kalk (0,05%) zugesetzt. Die sterilen Kolben wurden sodann mit je 0,2 ccm einer Aufschwemmung von Pseud. tumefaciens beimpft und 7 Tage lang in den Brutschrank gestellt, um zunächst eine Anpassung der Bakterien an den Boden zu erreichen. Danach erfolgte erst der Zusatz von je 5 ccm Chemikalienlösung. Nach frühestens 2 Tagen wurde aus jeder behandelten Bodenprobe eine Platinöse voll Erde in ein Röhrchen mit 5 ccm Möhrensaft abgeimpft, um hierin das Wachstum der Bakterien nach der Behandlung mit den Desinfektionsmitteln im Boden zu beobachten. Auch hierbei wurde die Kontrolle des Bakterienwachstums mehrere Wochen lang durchgeführt.

Die Säuregrenze lag nach eigenen Versuchen in Nährlösung mit Zusatz von organischen oder Mineralsäuren um p_H 5, wie Tab. 13 zeigt. Es ließ sich demnach durch Anwendung von Säuren — in Nährlösung schon bei einer Konzentration von 0,05% und in steriler Erde bei 0,2—0,4% Säuregehalt — jegliches Bakterienwachstum unterdrücken. Die Ergebnisse hinsichtlich der bakteriziden Wirkung der Fettsäuren in steriler Erde berechtigten zu der Hoffnung, auch den natürlich verseuchten Freilandboden durch Anwendung von billigem Holzessig erfolgreich desinfizieren zu können (12). Die anderen, in der Tabelle nicht aufgeführten, organischen Säuren wie Bernstein-, Zitronen-, Milch-, Oxal- und Weinsäure wirkten erst bei 0,1% Säuregehalt in Bouillon bakterientötend, während Trichloressigsäure bei 0,1% Konzentration noch unwirksam war. Pikrinsäure zeigte sich bei 0,06% bakterizid, war aber in solcher Konzentration im Vergleich zu den Fettsäuren unwirtschaftlich. Die aus einer Mischung von Natriumthiosulfat und Natriumbisulfat oder konzentrierter Schwefelsäure in steriler Erde entstehende schweflige Säure hemmte ebenso wie Borsäure die Bakterien erst in hohen Konzentrationen im Wachstum. Dagegen wiesen schwache Ammonium- und Kaliumpersulfatlösungen, deren Wirkung sich durch geringe Ansäuerung mit Benzoe- oder Essigsäure noch steigern ließ (32), in steriler Erde eine gute bakterizide Wirkung auf, so daß ihre Anwendung im Freiland in Lösung wie in Pulverform in Betracht gezogen werden konnte.

Tab. 13. Bakterizide Säurekonzentrationen in steriler Nährlösung und Erde. (Die Prozentzahlen beziehen sich auf den Säuregehalt in 9 ccm Möhrensaft bzw. in 50 g steriler Erde.)

Säure	Nährlösung		Sterile Erde	
	%	p_H	%	p_H
Ameisensäure	0,05	4,9	0,2	4,4
Essigsäure	0,05	5,2	0,2	5,0
Holzessig	0,5	5,2	1,0	—
Schwefelsäure	0,05	5,1	0,4	2,0
Perschwefelsäure aus:				
1. Ammoniumpersulfat (+ Essigsäure). . .	—	—	0,12 (0,07)	4,9
2. Kaliumpersulfat (+ Essigsäure). . .	—	—	0,06 (0,035)	5,4

Wie aus Tab. 13 weiterhin ersichtlich ist, wirkte Schwefelsäure in geringer Konzentration fast gleich schädlich wie die Fettsäuren. Es schien da-

her aussichtsreich, den verseuchten Boden durch Schwefelsäure zu desinfizieren, und zwar auf indirektem Wege durch Zuführung von elementarem Schwefel zum Boden und Oxydation desselben auf biologischem Wege, wie das Sherbakoff (66, 67) im nordamerikanischen Staate Tennessee versucht hatte. Diese Art der Bodenentseuchung hätte vor der einmaligen Anwendung technischer Schwefelsäure den Vorzug der größeren Wirtschaftlichkeit, und es wäre infolge kontinuierlicher Neubildung von Säure die bakterizide Wirkung von längerer Dauer. Um die für die Inaktivierung der Wurzelkropfbakterien im sterilen Boden erforderliche Menge an elementarem Schwefel sowie den Vorgang und Grad der Bodenansäuerung kennenzulernen, waren entsprechende Versuche in Aussicht genommen worden.

Je 250 g Versuchsfelderde wurden mit 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 und 1,0% Schwefel gemischt (Mörser), davon 5 × 50 g abgewogen und auf 5 Erlenmeyer-Kolben aus Jenaer oder Neutral-Glas von 100 ccm verteilt, der Inhalt aller Kolben mit je 10 ccm Leitungswasser befeuchtet und 2 Std. bei 1 Atü im Autoklaven am 27. 8. sterilisiert.

Am gleichen Tage wurde dann je Kolben 0,5 ccm Aufschwemmung des Bakterienstammes Ra und 1 ccm Schwefelbakterien (in Nährlösung) in 5 ccm dest. Wasser steril zugegeben. Bei den Schwefelbakterien handelte es sich um eine Reinkultur von Thiobacillus thiooxydans (81), die uns freundlicherweise von Dr. A. C. Thaysen, Teddington (England) überlassen worden war.

Die Kontrollerde besaß einen p_H-Wert von 7,04. Aus den Erdkolben wurden zu den in Tab. 14 angegebenen Zeiten zunächst je 1—2 Ösen in Bouillon übertragen

Tab. 14. Schwefelerde-Versuch mit Zusatz von Schwefelbakterien in Erlenmeyerkolben. Angesetzt am 27. 8. 1937.

Schwefelmenge % S	Kolben Nr.	am	p_H-Wert	Wachstum von Ps. tumefaciens am	Helianthus-Impfung am	Ergebnis am
0,2	1	30. 9.	2,56	2. 10. +	8. 10.	21. 10. 3—
0,2	2	30. 9.	2,84	2. 10. +	8. 10.	21. 10. 3—
0,2	3	1. 10.	3,22	4. 10. +	4. 10.	19. 10. 4—
0,2	4	1. 10.	2,83	4. 10. +	4. 10.	19. 10. 4—
0,2	5	1. 10.	2,61	4. 10. +	4. 10.	21. 10. 4—
0,4	1	24. 9.	3,15	29. 9. +	2. 10.	19. 10. 2—2±
0,4	2	24. 9.	3,25	29. 9. +	2. 10.	19. 10. 4—
0,4	3	30. 9.	2,12	2. 10. +	4. 10.	19. 10. 4—
0,4	4	30. 9.	2,07	2. 10. +	4. 10.	19. 10. 4—
0,4	5	30. 9.	2,38	2. 10. +	4. 10.	19. 10. 3—
0,6	1	16. 9.	4,93	29. 9. +	2. 10.	19. 10. 2—1±
0,6	2	24. 9.	4,72	29. 9. +	2. 10.	19. 10. 3—1±
0,6	3	24. 9.	4,80	29. 9. +	2. 10.	19. 10. 7—1±
0,6	4	24. 9.	3,56	29. 9. +	2. 10.	19. 10. 4—
0,6	5	24. 9.	4,16	29. 9. +	2. 10.	19. 10. 4—
0,8	1	10. 9.	5,08	13. 9. +	2. 10.	19. 10. 2—
0,8	2	13. 9.	4,90	16. 9. +	2. 10.	19. 10. 2—1±
0,8	3	13. 9.	4,58	16. 9. +	2. 10.	19. 10. 4—
0,8	4	13. 9.	4,28	16. 9. +	2. 10.	19. 10. 2—2±
0,8	5	16. 9.	4,48	29. 9. +	2. 10.	19. 10. 4—
1	1	9. 9.	4,25	11. 9. +	2. 10.	19. 10. 4—
1	2	9. 9.	4,43	11. 9. +	2. 10.	19. 10. 4—
1	3	10. 9.	5,12	13. 9. +	2. 10.	19. 10. 3—1±
1	4	16. 9.	4,28	29. 9. +	2. 10.	19. 10. 4—
1	5	24. 9.	2,87	29. 9. +	2. 10.	19. 10. 1—

zur Feststellung der Lebensfähigkeit des Ra-Stammes in der Schwefelerde nach diesen Zeiten und jeweils am gleichen Tage die Erde mit ca. 10—15 ccm destillierten Wassers zur Messung der Reaktion aufgeschwemmt.

Um auch eine etwaige Virulenzabnahme bzw. den völligen Virulenzverlust des Ra-Stammes kontrollieren zu können, wurden aus den Bouillonröhrchen nach einigen Tagen des Bebrütens je einige Ösen zur Impfung von je 3—4 Helianthus-Keimlingen entnommen.

Es ergibt sich aus diesen Versuchen folgendes:

1. Bereits 0,2% Schwefel waren ausreichend zur starken Versäuerung des Bodens innerhalb von 5 Wochen. Der dabei erzielte p_H-Wert unter 3 genügte innerhalb der Versuchszeit nicht zur Abtötung des bakteriellen Kropferregers, wohl aber zur Herbeiführung seines völligen Virulenzverlustes.

2. Bei Darreichung größerer Mengen Schwefel (bis 1,0%) verlief die Oxydation desselben nicht schneller.

3. Selbst in den Fällen, in denen innerhalb von 5 Wochen der Boden einen p_H-Wert von 2 erreicht hatte, blieb Pseud. tumefaciens im Boden noch am Leben.

4. Pseud. tumefaciens hatte nach 5wöchigem Aufenthalt in der sauren Schwefelerde die Virulenz völlig eingebüßt.

Der Versuch wurde nochmals mit Baumschulerde in ähnlicher Weise angesetzt, doch wurde dem Boden vor der Sterilisation 0,05% Kalziumkarbonat hinzugefügt und die Untersuchung der Kolben vom 12. Tage nach der Beimpfung ab durchgeführt. Der Zusatz von Pseud. tumefaciens und den Schwefelbakterien erfolgte am 5. 10.

Es sei hier von der Wiedergabe der Einzeldaten abgesehen, dafür sei nur ein Beispiel angeführt: Bei den Versuchen mit 0,2% Schwefel wurde am 13. 10. noch ein p_H-Wert von 6,5 gemessen, Bakterienwachstum und auch Virulenz waren noch positiv, am 18. 10. betrug das p_H 6,02, am 19. 10. noch 5,65 und am 20. wurde im letzten Kolben zwar ein p_H von 2,56 festgestellt, doch war die Virulenz trotzdem noch wenig geschwächt.

Daraus ist zu folgern, daß eine Versuchsdauer von 15 Tagen zwar ausreichen kann, das p_H der Schwefelerde bis unter 3 herunterzudrücken, daß dieser Zeitraum aber nicht genügt zur Vernichtung der Virulenz der Bakterien.

Ein weiterer Versuch mit schwerem Lehm und 5% Schwefel angesetzt, ergab zwar nach 7 Tagen noch ein p_H von 6,2, nach 10 Tagen war in einigen Kolben die Reaktion aber schon unter p_H 3 abgesunken. Ob für dieses schnellere Absinken die hohe Schwefelgabe oder aber der Lehm die Ursache ist, wurde nicht weiter untersucht.

Wurde dem Boden außer Schwefel noch die 2½fache Menge dieses an Kalziumkarbonat zugegeben, so änderte sich nach Zusatz der Schwefelbakterien die Reaktion, wenn überhaupt, nur wenig. Das niedrigste p_H, das gemessen wurde, war 6,55. Infolgedessen blieb hierbei auch die Wirkung auf die Virulenz des Erregers innerhalb von 5 Wochen aus.

Nachdem der wachstumshemmende Säuregrad des Nährmediums und die sich daraus für eine wirksame Bakterienbekämpfung eröffnenden Möglichkeiten ermittelt waren, sollte auch der wachstumsbegrenzende Alkalitätsgrad des Nährmediums festgestellt werden, obwohl wir uns bewußt waren, daß eine stärkere Verschiebung der Bodenreaktion nach der alkalischen Seite für das Pflanzenwachstum nicht günstig sein würde. In den mit Kalzium-, Kalium- und Natriumhydroxyd stufenweise alkalisierten Nährlösungen lag die Wachstumsgrenze für Pseud. tumefaciens erst bei p_H-Werten zwischen 9 und 10. Diese Werte wurden sofort nach der Zugabe von Alkali zur Nährlösung erhalten, während die Werte nach 2 Tagen stets um eine p_H-Einheit

(ca. p_H 8,5) tiefer lagen. Für die Bekämpfung der Bakterien kamen daher Alkalien nicht in Betracht.

Anschließend an die Prüfung der Säuren und Alkalien wurden die anderen, oben aufgeführten Mittel auf ihre bakterizide Wirkung untersucht. Dabei übte die Mehrzahl dieser Mittel eine Wachstumshemmung erst in solchen Konzentrationen aus, die ihre Anwendung im Freiland unwirtschaftlich erscheinen ließen. Nur Phenol und Formalin sowie die quecksilberhaltigen Mittel, als Desinfektions- und Beizmittel bereits bekannt und vielfach verwendet, wiesen eine genügend starke bakterientötende Wirkung in wirtschaftlich tragbaren Anwendungsmengen auf (Tab. 15).

Tab. 15. Bakterizide Konzentrationen verschiedener Desinfektionsmittel in Nährlösung und steriler Erde.

Mittel	Nährlösung %	Sterile Erde %
Phenol	0,05	0,1
Formalin	—	0,01
Quecksilberchlorid	0,003	0,01
Abavit-Naßbeize	0,003	0,005
Ceresan-Naßbeize (U 564 a)	0,008	0,05
Uspulun-Saatbeize	0,008	0,05
Uspulun-Universal	—	0,025

Auf Grund der Laboratoriumsversuche kamen aus der Zahl der geprüften Mittel außer den Säuren bzw. säurebildenden Stoffen nur noch die in Tab. 15 aufgeführten Desinfektionsmittel für die Wurzelkropfbekämpfung im Freiland in Betracht.

b) Topfversuche im Gewächshaus.

Von den für die weiteren Untersuchungen noch verbleibenden Chemikalien mußte nunmehr deren Einfluß auf die Pflanze und auf Pseud. tumefaciens in nicht steriler Erde ermittelt werden. Es wurden daher Topfversuche mit Stecklingen von krautigen Testpflanzen angestellt, bevor die letzte und wichtigste Prüfung im Freiland auf künstlich wie natürlich verseuchten Böden stattfand.

Kleine Töpfe wurden mit je 180 g lufttrockenem, lehmigem Sandboden aus einer Baumschule gefüllt und mit je 5 ccm einer Bakteriensuspension beimpft, die durch Abschwemmen von Petrischalen-Agarkulturen des Stammes II b mit je 30 ccm Wasser hergestellt war. Den Bakterien wurden 3—4 Tage Zeit zur Anpassung an den Boden und zur Vermehrung gelassen. Danach wurden die Töpfe mit je 45 ccm Lösung eines Mittels gleichmäßig übergossen und durchtränkt. Als Testpflanzen dienten für die Topfversuche Tomatenstecklinge, wofür nach Niemeyer (41) die Geiztriebe von den Gipfelsprossen der Tomatenpflanzen verwendet wurden[1]). Die Bepflanzung der Töpfe mit Stecklingen konnte erst nach 14 Tagen vorgenommen werden, da vor dieser Zeit die Stecklinge durch die angewendeten Mittel, insbesondere durch die Säurelösungen, im Boden noch geschädigt wurden und sich nicht bewurzelten. Nach 2 Monaten wurden die Topfversuche abgebrochen, um die Tomatenstecklinge auf Wurzel- und Tumorbildung an den ehemaligen Schnittflächen zu untersuchen.

Wie aus Tab. 16 ersichtlich, stimmen die im Laboratoriumsversuch in steriler Erde als bakterizid ermittelten Konzentrationen mit denen ziemlich

[1]) J. H. Muncie (39) benutzte zum Nachweis von Pseud. tumefaciens im Boden junge Tomatenpflanzen, die er in Bodenhöhe verletzte. Diese Methode hat sich in Vorversuchen bei uns nicht bewährt.

überein, die in den Topfversuchen in nicht steriler Erde das Bakterienwachstum und die Tumorbildungen an den Testpflanzen verhinderten. Somit versprach die Anwendung dieser Mittel eine wirksame Bekämpfung des Wurzelkropfes auch in natürlich verseuchten Baumschulböden.

Tab. 16. Topfversuch mit Tomatenstecklingen.
Bakterizide Konzentrationen ausgewählter Mittel in asteriler Erde.

Desinfektionsmittel	Bakterizide Konzentration asterile Erde %	sterile Erde[1]) %	Anzahl der Versuchspflanzen
Ameisensäure . . .	0,25[2])	0,1—0,2	10
Essigsäure	0,25	0,1—0,2	8
Holzessig	0,6	0,5—1,0	6
Sublimat	0,01	0,01	3
Ceresan	0,01	0,05	7

[1]) Diese Werte wurden den Tabellen 1 und 2 zum Vergleich entnommen.
[2]) Bei Anwendung geringerer Konzentrationen kam es zu deutlichen Tumorbildungen an den Versuchspflanzen.

Sodann wurde in Topfversuchen die Wirkung des elementaren Schwefels auf Pseud. tumefaciens im Boden festgestellt. Hierzu wurden im Frühjahr Erdproben von je 600 g desselben lufttrockenen Baumschulbodens in 3 Serien mit Mengen von 0,1—2 g Schwefelpulver innig vermischt, in kleine Töpfe gefüllt und in einem ungeheizten Kellergeschoßraum, dessen Temperatur wenig über der Außenwärme lag, feucht gehalten. Den Verlauf der Ansäuerung der Bodenproben (Serie 1) infolge der biologischen Oxydation des elementaren Schwefels zu Schwefelsäure durch die im Boden vorhandenen „Schwefelbakterien" zeigt Abb. 8 an.

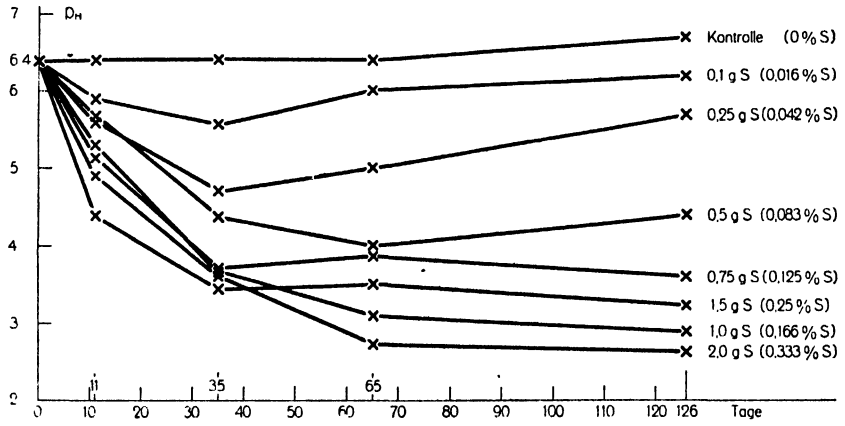


Abb. 8. Die Wirkung von elementarem Schwefel auf die Reaktion des Bodens. (Schwefel in g auf 600 g lehmigen Sand) Topfversuch.

Einen Monat nach erfolgter Ansäuerung des Bodens wurden die Bodenproben der parallelen Versuchsserien mit je 30 ccm Aufschwemmung von Stamm Ra beimpft und nach 2—4 Monaten zur Bepflanzung mit Pelargonien-Stecklingen im Gewächshaus verwendet. Da die Stecklinge sich im sauren Boden nicht bewurzeln, wurden die Bodenproben zur Neutralisation der Säure zuvor mit kohlensaurem Kalk und zwar mit der jeweils 3fachen Menge, wie sie an Schwefel gegeben worden war, vermischt. Nach 4, 6 und 10 Monaten wurden die Versuchspflanzen aus den Töpfen herausgenommen und auf Tumorentwicklung am Wurzelsystem untersucht.

In der I. Versuchsserie waren alle Pflanzen einschließlich derjenigen im ungeschwefelten Kontrollboden tumorfrei geblieben. In der II. und III. Versuchsserie wiesen die Pelargonien aus dem Kontrollboden und aus den mit 0,25 und 0,50 g Schwefel behandelten Bodenproben an der ehemaligen Schnittfläche Tumorbildungen auf, während die übrigen Versuchspflanzen aus den mit 0,1 (!), 0,75, 1,0, 1,5 und 2,0 g Schwefel behandelten Bodenproben nur mit mehr oder weniger starken kallusartigen Neubildungen an der früheren Schnittfläche verheilt waren.

Da indessen das Versuchsergebnis mit Stecklingen einer weniger anfälligen Pelargoniensorte gewonnen war und die Bodenimpfung mit P s e u d. t u m e f a c i e n s erst nach der Ansäuerung erfolgte, wodurch die Bakterienvirulenz unnatürlich beeinflußt sein konnte, so wurden die Topfversuche mit Tomatenstecklingen wiederholt. Aber auch dieser Versuch ermöglichte keine klare Auswertung. Die Tumorbildung an den Stecklingen hängt, wie es scheint, nicht allein von der Virulenz des Erregers im Boden ab, sondern die Reaktion der krautigen Wirtspflanzen auf den Bakterienbefall scheint von Bedingungen abhängig zu sein, die willkürlich nicht regulierbar sind.

Deshalb wurde von weiteren Versuchen mit krautigen Testpflanzen Abstand genommen und zu Topfversuchen mit einjährigen Kernobstwildlingen im Freiland übergegangen.

Hierzu wurden größere Töpfe (Durchmesser 14 cm) mit je 1300 g lufttrockenem Baumschulboden — aus einem mit Wurzelkropf stark verseuchten, etwa 3jährigen Kernobstquartier — gefüllt und jeweils 6 Bodenproben mit je 150 ccm Lösung eines Desinfektionsmittels[1]) bzw. mit 2 und 4 g pulverisiertem Schwefel durchmischt. Die mit gelösten Mitteln desinfizierten Erdproben wurden 3 Wochen später, nachdem die mit Säuren behandelten Böden wieder annähernd normale p_H-Werte aufwiesen, mit frisch zurückgeschnittenen, 1jährigen Apfel- und Birnenwildlingen (je 3 Apfel und 3 Birnen = je 6 Töpfe) im Frühjahr bepflanzt. Die mit Schwefel durchmischten Bodenproben zeigten nach 2 Monaten p_H-Werte um 3 (2 g Schwefel: p_H 3,3; 4 g Schwefel: p_H 2,85) und wurden vor dem Bepflanzen zur Neutralisation der Schwefelsäure im Boden mit 1—10 g kohlensaurem Kalk behandelt.

Die Topfversuche wurden im Spätherbst abgebrochen, um die Wildlinge auf Kropfbefall an den Wurzeln zu untersuchen. Da die Wildlinge in den Töpfen allgemein bedeutend schwächer und ungleichmäßiger als im Freiland anwuchsen und sich auch im unbehandelten Kontrollboden teilweise gar nicht bewurzelten, lassen sich die Versuchsergebnisse nicht in prozentualen Befallszahlen ausdrücken. Die mit 5proz. Holzessig-, 2proz. Ameisensäure-, 0,5-proz. Formalin-, 0,5- und 1,0-proz. Phenol- und 1,0-proz. Ammonium- und Kaliumpersulfatlösung behandelten Bodenproben ergaben ebenso wie die unbehandelten Kontrollböden frischen Wurzelkropfbefall an einigen der je 6 Versuchspflanzen. Nur die Wildlinge aus den mit 3-proz. (!) Holzessig- und 1,0-proz. Formalinlösung desinfizierten Bodenproben wiesen tumorfreie Wildlinge auf, während 0,2- und 0,5-proz. Sublimatlösung die Bewurzelung der Wildlinge überhaupt verhindert hatte.

Die Apfel- und Birnenwildlinge hatten in den geschwefelten Erdproben, die mit weniger als der 2½fachen Menge an kohlensaurem Kalk — im Verhältnis zum Schwefelzusatz — behandelt wurden, keine Wurzeln getrieben, da die Kalkmengen zur Neutralisation der Bodensäure nicht ausgereicht hatten und noch im Juni p_H-Werte zwischen 2 und 4 gemessen wurden.

[1]) Die Ammonium- und Kaliumpersulfatlösungen wurden jeweils mit 30 ccm 1,4proz. Essigsäure- bzw. 2proz. Ameisensäurelösung auf 150 ccm Stammlösung angesäuert. [Über die bakterizide Wirkung von angesäuerten Persulfatlösungen siehe H. L e u n i g (32).]

Die Ergebnisse der Topfversuche mit Wildlingen ließen keine sicheren Rückschlüsse auf die Desinfektionswirkung der Mittel im verseuchten Baumschulboden zu, da dem zahlenmäßig geringen Versuchsmaterial zu große Fehlerquellen anhafteten.

Nach I. W. Ames (5) vermag pulverisierter Schwefel eine günstige Wirkung auf gewisse Leguminosen auszuüben. Auch H. R. Adams (4) hat sich mit dem Einfluß des Schwefels im Boden auf Leguminosen befaßt. Es lag daher nahe, zu prüfen, ob der elementare Schwefel bei Kernobstwildlingen außer einer infektionshemmenden auch eine wachstumsfördernde Wirkung auslösen kann.

Für die Versuchsanstellung wurden die Bodenproben sowohl mit Schwefel als auch mit Schwefel-Kalkgemisch — zur Ausschaltung der mit der Schwefeloxydation verbundenen Bodensäuerung — wie auch zur Kontrolle der Kalkwirkung mit reinem Kalk behandelt. Hierzu wurden Töpfe (Größe: 17 cm Durchmesser) mit je 2500 g einer Mischung von ein Drittel Kompostorde und zwei Drittel humosem Sandboden gefüllt. Je 12 Bodenproben wurden mit 1, 2 und 4 g Schwefel bzw. einer Mischung von 1, 2 und 4 g Schwefel mit der jeweils 3fachen Menge kohlensaurem Kalk bzw. mit 3, 6 und 12 g kohlensaurem Kalk allein gemischt, während 6 weitere unbehandelte Bodenproben als Kontrollen dienten. Je 6 Töpfe wurden sodann mit Apfel- bzw. Birnenwildlingen bepflanzt und wie oben bis an den Topfrand in den Erdboden eingelassen („eingefüttert").

Wenn der elementare Schwefel als Nährstoff von der Pflanzenwurzel aufgenommen werden sollte und auf diesem Wege eine wachstumsstimulierende Wirkung ausgeübt wird, so war auch die Möglichkeit zu prüfen, ob der aufgenommene Schwefel innerhalb der Wurzel die Anfälligkeit für Bakterieninfektionen herabsetzte. Es wurde deshalb die Hälfte der Versuchspflanzen im Juni mit einem Gemisch von drei hochvirulenten Bakterienstämmen (Stamm Ra, B. t., S. Pf.) am Wurzelhals geimpft.

Tab. 17. Einfluß des Schwefels auf die Bewurzelung von Apfel- und Birnenwildlingen in Topfversuchen mit je 6 Apfel- und Birnen-Versuchspflanzen.

Bodenbehandlung 2500 g Erde mit Zusatz von	Bewurzelung der Äpfel					Bewurzelung der Birnen				
	sehr gut	gut	normal	schwach	unbewurzelt	sehr gut	gut	normal	schwach	unbewurzelt
1 g S	2	—	4	—	—	3	3	—	—	—
1 g S + 3 g $CaCO_3$	3	—	—	3	—	—	3	2	—	1
3 g $CaCO_3$	—	4	1	1	—	—	6	—	—	—
2 g S	—	5	—	1	—	—	3	—	—	3
2 g S + 6 g $CaCO_3$	3	—	1	2	—	1	1	1	1	2
6 g $CaCO_3$	—	—	3	3	—	—	3	1	2	—
4 g S	—	3	—	3	—	—	—	2	2	2
4 g S + 12 g $CaCO_3$	—	3	2	1	—	—	1	—	2	3
12 g $CaCO_3$	—	2	2	2	—	—	3	—	3	—
Kontrolle (ohne Zusätze)	—	—	4	—	2	—	1	1	2	2

Die Schwefel-Topfversuche wurden im Herbst abgebrochen. Allgemein hatten die Versuchspflanzen nur schwache Triebe entwickelt, so daß sich äußerlich deutliche Unterschiede in Stärke und Wuchs der Wildlinge als Folge der Bodenbehandlung kaum erkennen ließen. Deshalb ist auch die Auswertung nur mit Vorbehalt möglich. Die Bewurzelung der Wildlinge war anscheinend durch Behandlung der Erdproben mit geringen Dosen von Schwefel, Schwefel-Kalkmischung oder auch von Kalk allein — im Ver-

gleich zu den unbehandelten Wildlingen — etwas gefördert, nahm aber bei höheren Dosen wieder ab (Tab. 17). Wie in anderen Versuchen zeigte sich auch hier wieder eine höhere Widerstandsfähigkeit und Wuchsfreudigkeit der Apfelwildlinge gegenüber den Birnenwildlingen.

Die künstlichen Infektionen mit Pseud. tumefaciens am Wurzelhals der Wildlinge waren derart unregelmäßig angegangen, daß sie hinsichtlich ihrer Abhängigkeit von der Bodenbehandlung keine Schlußfolgerungen gestatteten.

c) Frühbeetversuche.

Um zu prüfen, welchen Einfluß einige der auf Grund der Laboratoriumsversuche als geeignet erkannten Mittel auf die Obstgehölze im Keimlingsstadium haben, d. h. um festzustellen, ob eine Behandlung der Saatbeete mit diesen Mitteln ohne Schaden für die heranzuziehenden Pflanzen möglich sei, wurden in einem größeren Frühbeetkasten mit humusreicher Erde 8 Parzellenversuche durchgeführt.

Die Größe der Einzelparzellen betrug etwa 75 × 75 cm, zwei davon waren etwas kleiner. Am 24. 3. 1937 wurden die Mittel aufgebracht, und zwar soweit es sich um Streumittel handelte, wurden diese zuvor mit etwas Saatbeeterde vermischt, soweit es sich um gelöste handelte, wurden für die entsprechende Menge 10 l/qm Wasser benötigt. Die bestreuten bzw. begossenen Parzellen wurden nach der Behandlung gründlich durchgeharkt. Tags darauf wurde die eine Hälfte jeder Parzelle mit Birnen-, die andere mit Apfelsamen in der üblichen Weise besät. Die Saat stammte aus der Ernte 1936 und war stratifiziert. Der Boden war künstlich verseucht. Ende Mai wurde der größte Teil der inzwischen herangewachsenen Sämlinge pikiert und ins Freiland verpflanzt. Zuvor war die Bonitierung der Pflanzen erfolgt (siehe Tab. 18).

Tab. 18. Saatbeetversuche 1937 mit stratifizierter Apfel- und Birnensaat.

Parzellen-Nr.	Mittel	Menge pro 1 qm	Bodenbehandlung	Aussaat	Sämlingswachstum am 22. 5. 1937
1	Schwefel	100 g	24. 3.	25. 3.	++(+)
2	„	50 g	24. 3.	25. 3.	++++
3	Abavit	25 g	24. 3.	25. 3.	++
4	„	10 l 0,25proz. Lösung	24. 3.	25. 3.	+++
5	Uspulun	10 l 0,5proz. Lösung	24. 3.	25. 3.	++(+)
6	Ceresan	10 l 0,5proz. Lösung	24. 3.	25. 3.	++++
7	Sublimat	15 g	24. 3.	25. 3.	++
8	Kontrolle	unbehandelt	24. 3.	25. 3.	++(+)

Es hatte sich gezeigt, daß die Bodenbehandlung mit einer 0,5proz. Ceresanlösung auf Birnen- und Apfelsämlinge in gleicher Weise außerordentlich günstig gewirkt hatte. Die Pflänzchen standen kräftiger und waren größer als die der Kontrollparzelle und auch viel besser als auf der mit Uspulun in gleicher Stärke vergleichsweise behandelten Parzelle. Einen ebenso günstigen Einfluß auf die junge Saat wie Ceresan hatte auch 50 g/qm Schwefel, während derselbe bei 100 g/qm nicht mehr zu beobachten war. Nachteilig gewirkt hatte sowohl Sublimat (15 g/qm), wie Abavit (25 g/qm) gestreut. Abavit in Lösung hatte sich günstig ausgewirkt, jedoch nicht den Stand der Sämlinge auf der Ceresanparzelle erreicht.

d) Feldversuche.

Die in den Laboratoriums- und Gewächshausversuchen ausgewählten und Erfolg versprechenden Mittel wurden schließlich 1936 bzw. 1937 auf verseuchten Freilandflächen zur Bekämpfung des Wurzelkropfes an Kernobstwildlingen angewendet. Die Versuche gelangten auf dem Dahlemer Versuchsfeld der Biologischen Reichsanstalt, sowie in fünf bzw. 1937 in vier norddeutschen Baumschulen und in einer kurmärkischen Baumschule zur Durchführung. Die ausgewählten Flächen hatten bereits mindestens 1 Jahr kranke Kernobstwildlinge getragen und waren dadurch mehr oder minder mit Pseud. tumefaciens verseucht. Das Dahlemer Versuchsfeld wurde künstlich mit zerkleinerten Tumoren und mit Reinkulturen infiziert. Die im Winter bzw. im Frühjahr mit 800—1200 dz je Hektar Stalldünger abgedüngten Felder wurden im ersten Versuchsjahre in Parzellen von 2 × 2 m = 4 qm und im zweiten Versuchsjahre in Parzellen von 1,5 × 2 m = 3 qm (Dahlemer Versuchsfeld 1,5 × 1,5 m = 2,25 qm) eingeteilt. Zwischen den einzelnen Parzellen lagen 20 cm breite Wege. Um bodenbedingte Unterschiede als Fehlerquellen möglichst auszuschalten, wurde jeder Versuch in 3facher Wiederholung auf drei entfernt voneinander liegenden Parzellen der jeweiligen Versuchsfläche durchgeführt. Die Versuchsfelder besaßen folgende Einteilung:

1936.	1937.
1. Norddeutsche Baumschulen:	1. Norddeutsche Baumschulen:
4 Felder mit je 60 Parzellen	1 Feld mit 132 Parzellen
1 Feld „ 31 „	1 „ „ 84 „
	1 „ „ 60 „ [1]
2. Kurmarkische Baumschule:	2. Kurmärkische Baumschule:
1 Feld mit 108 Parzellen	1 Feld mit 138 Parzellen
3. Dahlemer Versuchsfeld:	3. Dahlemer Versuchsfeld:
1 Feld mit 62 Parzellen	1 Feld mit 69 Parzellen
	1 „ „ 21 „

Die Versuche umfaßten 1936 etwa 50 000 einjährige Wildlinge und 1937 4500 krautig pikierte Sämlinge und 60 000 einjährige Wildlinge. Es wurden folgende Mittel angewendet:

1936.

I. Zur Bodendesinfektion:

a) Flüssige Mittel, gegossen 12 l/qm:

1. Ameisensäure . . .	1,0%	1,5%	2,0%		
2. Formalin	0,3%	0,5%	0,6%	1,2%	
3. Holzessig	3,0%	5,0%	7,5%	8,0%	
4. Phenol	0,5%	0,65%	0,75%	1,0%	1,35%
5. Phenol, roh. . . .	0,5%	1,0%			
6. Sublimat	0,2%	0,5%			
7. Kaliumpersulfat (98—99%) + Essigsäure 50%			1,0% + 0,3%	2,0% + 0,5%	

b) Feste Mittel, gestreut (g/qm):

1. Abavit (Naßbeize)	24 g	60 g	120 g
2. Branntkalk (CaO)	80 g	92 g	320 g
3. Brassicol	30 g	50 g	
4. Formaldehyd-Kohlepulver .	200 g [2]		
5. Kaliumpersulfat (98—99%) .	240 g		

[1]) Eine weitere Baumschule hatte ein kleineres Feld zur Verfügung gestellt mit — wie sich später herausstellte — zu geringer Verseuchung, so daß eine Auswertung unmöglich war.

[2]) Bei dem Formaldehyd-Kohlepulver handelte es sich um ein Kohlengrus, das 3% Formalin enthielt.

6. Kohlensaurer Kalk			200 g	220 g	800 g	
7. Schwefel . . .	50 g	62,5 g	125 g	182,5 g	200 g	250 g
	300 g	375 g	400 g	437,5 g	500 g	800 g
	1200 g	—	—	—	—	—
8. Sublimat . . .	60 g	120 g				
9. Branntkalk			80 g			
+ Kohlensaurer Kalk			+ 200 g			

c) Feste und flüssige Mittel kombiniert:
feste: gestreut g/qm; flüssige: gegossen 12 l/qm.

1. Ammoniumpersulfat	240 g	
+ Essigsäure	+ 0,54%	
2. Kaliumpersulfat (98—99%)	120 g	240 g
+ Essigsäure)	+ 0,27%	+ 0,54%

II. Zur Desinfektion der Pflanzen (Tauchmittel):

1. Abavit-Naßbeize	0,2%	0,5%	1%	—
2. Ceresan-Naßbeize (U 564 a) . . .	—	0,5%	1%	—
3. Uspulun-Universal	—	0,5%	1%	—
4. Uspulun-Saatbeize	—	0,5%	1%	2%

1937.

I. Zur Bodendesinfektion:

a) Feste Mittel, gestreut (g/qm):

1. Abavit (Naßbeize)	20 g	25 g	30 g	40 g
2. Sublimat	10 g	15 g	20 g	—
3. Schwefel	50 g	100 g	200 g	—

b) Feste Mittel in Verbindung mit Tauchmitteln:

1. Schwefel	50 g	100 g	200 g
+ Ceresan	+ 1%	+ 1% und 2%	+ 1% und 2%
2. Schwefel	50 g	100 g	200 g
+ Uspulun	+ 1%	+ 1%	+ 1%

c) Schwefel in Verbindung mit Schwefelbakterienerde:

1. Schwefel 50 g +	67 g	300 g	335 g	500 g	Schwefelbakterienerde
2. Schwefel 100 g +	67 g	300 g	335 g	500 g	Schwefelbakterienerde
3. Schwefel 200 g +	67 g	300 g	335 g	500 g	Schwefelbakterienerde

d) Schwefel in Verbindung mit Schwefelbakterienerde und Tauchmitteln:

1. Schwefel + Schwefelbakterienerde + Abavit:
Schwefel 50 g 100 g 200 g
+ Schwefelbakterienerde 335 g + Abavit 0,5%,
Schwefel 100 g 200 g
+ Schwefelbakterienerde 667 g + Abavit 0,5%

2. Schwefel + Schwefelbakterienerde + Ceresan:
Schwefel 50 g 100 g 200 g
+ Schwefelbakterienerde 335 g + Ceresan 1%,
Schwefel 100 g 200 g
+ Schwefelbakterienerde 667 g + Ceresan 2%

3. Schwefel + Schwefelbakterienerde + Uspulun:
Schwefel 50 g 100 g 200 g
+ Schwefelbakterienerde 335 g + Uspulun 1%,
Schwefel 50 g 100 g 200 g
+ Schwefelbakterienerde 500 g + Uspulun 2%

e) Schwefel in Verbindung mit Kalk[1]):

1. Schwefel	50 g	100 g	200 g
+ Kalk	+ 150 g	+ 300 g	+ 600 g

2. Schwefel 100 g + Kalkmergel + 1000 g

f) Schwefel in Verbindung mit Schwefelbakterienerde und Kalk:

1. Schwefel	50 g	100 g	200 g	+ 500 g Schwefelbakterienerde
+ Kalk	+ 150 g	+ 300 g	+ 600 g	
2. Schwefel	50 g	100 g	200 g	+ 335 g Schwefelbakterienerde
+ Kalk	+ 200 g	+ 400 g	+ 800 g	

g) Schwefel in Verbindung mit Kalk und Tauchmittel:

Schwefel	50 g	100 g	200 g	+ 1% Ceresan
+ Kalk	+ 150 g	+ 300 g	+ 600 g	

h) Schwefel in Verbindung mit Kalk, Schwefelbakterienerde und Tauchmittel:

Schwefel	100 g	200 g	+ 667 g Schwefelbakterienerde
+ Kalk	+ 300 g	+ 600 g	+ 2% Ceresan

i) Kalk und Uspulun:

$CaCO_3$ 166 g + 1% Uspulun

II. Zur Desinfektion der Pflanzen (Tauchmittel):

a) auf gedüngter Parzelle:

1. Abavit-Naßbeize	0,2%	0,5%	1,0%
2. Ceresan-Naßbeize (U 564 a)	1,0%	2,0%	—
3. Uspulun-Saatbeize	1,0%	2,0%	—
4. Schwefel	1,0%	—	—

5. Schwefel, gestäubt
6. Schwefel 1% + Abavit 0,5%
7. Schwefel 1% + Ceresan 1,0%
8. Schwefel 1% + Uspulun 1,0%

b) auf ungedüngter Parzelle:

1. Abavit-Naßbeize	0,5%	—
2. Ceresan	1,0%	2,0%
3. Uspulun	2,0%	—

Anwendung der Mittel.

Soweit die Mittel als Lösung zur Anwendung kamen, wurden sie an Ort und Stelle in Brunnenwasser aufgelöst und mit Gießkannen gleichmäßig über die Parzellen gebraust. Da nur begrenzte Mengen von Lösungsmitteln aus praktischen Gründen vor allen Dingen infolge der Wasserfrage im Freiland verwendet werden konnten, so wurden 12 l (= 1 Gießkanne) je Quadratmeter gewählt. Diese Menge wird üblicherweise bei der Bodendesinfektion mit Formalin benutzt. Es wurden dafür die Konzentrationen der Lösungen über die bakteriziden Konzentrationen hinaus erhöht und mehrfach abgestuft, wie aus der Aufführung der Mittel zu ersehen ist. Die Lösungen drangen bis in 20—25 cm Bodentiefe ein. In einigen Fällen wurden die Parzellen nach der Behandlung gründlich durchgeharkt, um den Boden bis auf 25 cm Tiefe mit den Mitteln gut zu vermischen. Die mit Formalin behandelten Parzellen wurden 14 Tage mit Strohmatten abgedeckt, um einer zu schnellen Verdunstung des Formalins vorzubeugen. Im allgemeinen wurden die Mittel 4 Wochen vor dem Auspflanzen angewendet. Auf die Prüfung der flüssigen Mittel zum Zwecke der Bodendesinfektion wurde 1937 verzichtet, da sich bei den Feldversuchen 1936 herausgestellt hatte, daß sie für die Bekämpfung des Wurzelkropfes an Kernobstwildlingen keine nennenswerte Bedeutung besaßen.

Sofern die Mittel gestreut wurden und pulverisiert in den Boden kamen, wurden die angeführten Mengen entweder direkt oder nach vorheriger gründlicher Durch-

[1]) Als Kalk wurde, wenn nichts anderes erwähnt, präzip. kohlensaurer Kalk verwendet.

mischung mit einigen Kilogramm Erde auf die Parzellen möglichst gleichmäßig verteilt. Danach wurden die Flächen umgegraben. Somit gelangten die Mittel in ca. 20—25 cm Tiefe, also bis in die Zone der Wurzelschnittflächen. Soweit es sich zeitlich durchführen ließ, wurden die Mittel 1936 vier Wochen vor dem Aufschulen in den Boden eingebracht, um irgendwelche nachteiligen Wirkungen für das Anwachsen der Pflanzen zu vermeiden. Mit den 1937 aufgeführten „Streumitteln" sollte ebenso verfahren werden, jedoch konnte vornehmlich in den norddeutschen Baumschulen diese Zeit nicht eingehalten werden, weil infolge der langanhaltenden Regenfälle und der hohen Bodenfeuchtigkeit die Bearbeitung der Versuchsflächen erst kurz vor dem Aufschulen in Angriff genommen werden konnte. Besondere Maßnahmen wurden bei der Anwendung des Schwefels getroffen. Um zu untersuchen, ob die 1936 festgestellte bakterizide Wirkung des Schwefels auf dem Schwefel an sich oder vielmehr in der Verschiebung der Bodenreaktion, infolge der biologischen Oxydation des elementaren Schwefels durch Schwefelbakterien zu Schwefelsäure und der damit erfolgten Ansäuerung des Bodens beruht, wurde der Schwefel außerdem in Verbindung mit „Schwefelbakterienerde", andererseits mit Kalk und ferner mit „Schwefelbakterienerde" + Kalk zur Anwendung gebracht.

Diese Schwefelbakterienerde wurde zunächst in der Weise hergestellt, daß 5 kg Versuchsfelderde 7,5% pulverisierter Schwefel beigemischt und diese Schwefelerde dann mit etwa 50 ccm einer 8 Wochen alten Kulturlösung von Thiobacillus thiooxydans geimpft wurde. Diese Erde wurde in einem abgedeckten Tontopf unter zeitweiligem Durchmischen und Anfeuchten mit Wasser einige Wochen bei Zimmertemperatur stehengelassen. Da nach etwa 6 Wochen die Anreicherung des Bodens mit den Schwefelbakterien als gelungen anzusehen war, wurden etwa 25 kg Erde wiederum zunächst mit Schwefel versetzt und dann durch Vermischung mit der Schwefelbakterienerde „geimpft". Nach weiteren 4 Wochen wurden diese 30 kg Schwefelbakterienerde ihrerseits wieder zum „Impfen" von größeren Mengen zuvor mit Schwefel versetzter Erde verwendet usf. Bestimmte Mengen dieser schließlich stark mit Schwefelbakterien angereicherten Erde wurden an die Baumschulen mit der Anweisung geschickt, diese sogleich mit einer wiederum bestimmten Menge Felderde (nicht Komposterde), der auf 50 kg 3,75 kg pulverisierten Schwefels zuzusetzen sei, gut zu durchmischen und an einen warmen Ort (gegebenenfalls in die Sortierräume) zu bringen und jede Woche einmal umschaufeln und vorsichtig anfeuchten zu lassen.

Von diesem Erdhaufen wurden dann zu bestimmten Terminen bestimmte Mengen gleichzeitig mit dem zu streuenden Schwefel auf die dafür in Frage kommenden Parzellen aufgebracht und untergegraben.

Durch die Benutzung solcher Schwefelbakterienerde sollte die Zersetzung des Schwefels beschleunigt werden und gleichmäßig verlaufen. Für die Anwendung des Schwefels waren die Termine Januar = 3 Monate, Februar = 2 Monate, März = 1 Monat und April = unmittelbar vor dem Aufschulen vorgesehen, um den günstigsten Zeitpunkt der Anwendung zu ermitteln. Diese Termine konnten jedoch aus den bereits oben angeführten Gründen zumeist nicht eingehalten werden.

Für die Versuche nach dem Tauchverfahren dienten vornehmlich die quecksilberhaltigen Beizmittel. Aus den Lösungen wurde, wie bisher mit Uspulun üblich, ein wässeriger Lehmbrei hergestellt, indem ein Eimer von etwa 12 l Inhalt mit Lehm dreiviertel vollgefüllt und dann soviel Beizlösung langsam unter Umrühren zugesetzt wurde (der Schwefel wurde gleichmäßig angerührt verwendet), bis ein Brei von nicht zu dünner Beschaffenheit entstand. Die frisch zurückgeschnittenen Wildlinge wurden bündelweise mit den Wurzeln bis an den Wurzelhals in diesen Lehmbrei kurz eingetaucht und umgerührt. Der Rückschnitt der Wurzeln und die Tauchung der Wildlinge erfolgte unmittelbar vor dem Pflanzen.

Ungünstige Nachwirkungen der angewandten Mittel auf den Wuchs der Pflanzen traten im Laufe der Vegetationszeit 1936 in einigen Fällen auf, insbesondere auf den mit Sublimat behandelten Parzellen. So wurde die Menge 60 g Quecksilberchlorid je Quadratmeter, als 0,5proz. Lösung angewendet oder als Salz gestreut, in keinem Fall ohne schwere Wachstumshemmung ertragen, während eine Menge von 24 g Sublimat je Quadratmeter — als 0,2proz. Lösung oder als Salz — nur teilweise eine sichtbare Wachstumsminderung verursachte. Wuchsschäden nach dem Streuen von elementarem Schwefel ließen sich, wie Tab. 19 zeigt, auch in einigen Fällen feststellen. Die Wirkung des Schwefels erwies sich am stärksten ab-

hängig von der ursprünglichen Bodenazidität. In einem stark sauren, humosen Sandboden (p_H 4—5) war der Stand der Wildlinge auf allen Schwefelparzellen schlechter als in den Kontrollparzellen[1]). Dagegen trugen die Schwefelparzellen auf der benachbarten Versuchsfläche, einem humosen Sandboden von p_H 6,0, bis auf die mit 300 g Schwefel behandelten Parzellen, Wildlinge von normaler Stärke. Andererseits ist der Grad der Oxydation des Schwefels zu Schwefelsäure von der Zahl und Aktivität der im Boden jeweils vorhandenen „Schwefelbakterien" abhängig. Dadurch wird es erklärlich, daß Schädigungen durch Schwefel nicht einheitlich auftraten. Auch die verschiedene Pufferung der Böden dürfte hierbei eine Rolle spielen, vor allem, wenn in einem Versuch die Parzellen mit 100 und 200 g/qm Schwefel schwächere Pflanzen als die unbehandelten Kontrollparzellen trugen, während die mit 300 g Schwefel bestreuten Parzellen einen „normalen" Wildlingsstand zeigten. Die Anwendung von Schwefel zur Wurzelkropfbekämpfung läßt sich nur auf solchen Böden durchführen, die von Natur aus oder durch Kalkung einen p_H-Wert von mindestens 6,0 aufweisen, damit die Ansäuerung des Bodens durch die Umsetzung des Schwefels zu Säure keine nachteilige Wirkung auf die Wildlinge ausüben kann. Die Kalkung darf aber nicht erst wenige Wochen vor dem Aufschulen erfolgen, sondern im Herbst des Jahres zuvor.

Tab. 19. Wuchsschäden an Kernobstwildlingen nach Bodenbehandlung mit Schwefel. (0 = kein Schaden; 1/3 = Wuchsschäden auf einer Parzelle von insgesamt 3 Parzellen, 2/3 und 3/3 auf 2 bzw. 3 Parzellen.)

Baumschule Nr.	100 g/qm	Schwefel 200 g/qm	300 g/qm
I (lehmiger Sand)	0	0	0
II (sandiger Lehm)	0	0	0
III (humoser Sand)	1/3	0	1/3
IV (humoser Sand)	0	1/3	1/3
V (humoser Sand)	1/3	1/3	0
VI (saurer, humoser Sand)	3/3	2/3	3/3

Die Schwefelbehandlung des Bodens wies nur in einer Baumschule (Nr. II, sandiger Lehm) einen wachstumsfördernden Einfluß auf, der sich in der Stärke der Wildlinge wie auch in dem kräftigen Wurzelsystem äußerte. Zum Vergleich wurden drei nebeneinanderliegende Parzellen auf die Stärke der Wildlinge hin untersucht (Tab. 20). Eine bessere Ausbildung des Wurzelsystems durch gestreuten Schwefel wurde auch noch in einer Baumschule mit humosem Sand (Nr. III) beobachtet.

Weiterhin war in 3 Versuchen eine wachstumsfördernde Wirkung des Formalins (in 0,3-proz. Lösung) festzustellen. Da dieser günstige Einfluß besonders stark auf einem baumschulmüden Boden (B. Nr. V) und weiterhin

[1]) Dementsprechend standen die Wildlinge auf den mit Branntkalk (80 g/qm) behandelten Parzellen deutlich besser als auf den Kontrollparzellen, während auf denen mit kohlensaurem Kalk keine fördernde Wirkung festzustellen war.

Tab. 20. Wuchssteigerung von Kernobstwildlingen nach Bodenbehandlung mit Schwefel in Baumschule Nr. II.

Parzelle Nr.	Bodenbehandlung	Wildlinge	Anzahl der Wildlinge 4/6 mm Stärke	6/8 mm Stärke	8/10 mm Stärke	10/12 mm Stärke
45	Schwefel 200 g/qm	Apfel	14	26	32	4
		Birne	8	22	32	16
46	unbehandelt (Kontrolle)	Apfel	23	40	16	5
		Birne	23	22	28	11
47	8% Holzessig 12 l/qm	Apfel	32	42	18	2
		Birne	23	28	29	11

auf dem sauren, humosen Sandboden (B. Nr. VI) auftrat, so liegt die Annahme nahe, daß das Formalin durch Entseuchung des Bodens von schädlichen Mikroorganismen (evtl. Protozoen) das Wachstum indirekt angeregt hat. Andererseits trat die Formalinförderung auch in einigen Parzellen auf einem sandigen Lehmboden (B. Nr. II) mit Wildlingen erster Wahl auf. Da diese Parzellen aber in einer Richtung und nicht weit voneinander lagen, so enthielt vermutlich gerade diese Bodenpartie schädliche Kleinlebewesen, denn auch Phenol wirkte sich in diesem Teil der Versuchsfläche günstig auf den Pflanzenwuchs aus.

Die Förderung durch Formalin trat in 0,3-proz. Konzentration am stärksten auf. Da schwächere Konzentrationen nicht angewandt wurden, besteht die Möglichkeit, daß diese eine noch günstigere Wirkung ausüben können. 0,5- und 1-proz. Lösungen riefen dagegen in zwei Versuchen schon hin und wieder Wuchsschäden hervor. Diese ließen sich gelegentlich auch nach Anwendung von Phenol- und Holzessigverdünnungen feststellen.

Einfluß der Mittel auf den Tumorbefall.

Die Versuche wurden im Herbst (Oktober/November) abgebrochen und ausgewertet. Hierzu wurden die Wildlinge parzellenweise aus dem Boden herausgenommen und auf den Befall mit Wurzelkropf untersucht. Da die Auszählung und Messung der einzelnen Tumoren und der Wildlingsstärke wegen der großen Zahl der Versuchspflanzen sowie der großen Tumorenzahl je Pflanze nicht möglich war, wurden nur Befall und Nichtbefall sowie die durchschnittliche Größe der Tumoren und Wildlinge je Parzelle notiert. Sodann wurde bei Kropfbefall unterschieden zwischen 1. frischer Infektion diesjähriger junger Wurzeln sowie der durch den Frühjahrschnitt entstandenen Schnittflächen der alten Wurzeln und 2. Infektion vorjähriger Wurzeln, einschließlich der Infektion am Wurzelhals.

Diese Unterscheidung ist deshalb durchgeführt worden, weil von den unter 1. genannten Fällen die Infektion bestimmt eine Neuinfektion sein muß, während die Möglichkeit gegeben ist, daß Infektionen unter 2. nicht unbedingt neu sein müssen, sondern die Erreger vielleicht schon „latent" in den alten Wurzelteilen vorhanden waren. Wenngleich nach weiter oben (s. S. 230) angeführten Versuchen der Prozentsatz solcher Altinfektionen relativ gering sein dürfte, so war doch für die Beurteilung der Wirksamkeit der angewandten Mittel zunächst von Wichtigkeit, im Sämlingsalter entstandene Infektionen der alten Wurzeln von den neuen Infektionen des 2. Jahres sicher zu trennen. Nach Niemeyer (41) und Stapp (72a) kann die Inkubationszeit z. B.

bei der Rebe 1 Jahr und mehr betragen. Nach Niemeyer kann das bei Kernobstwildlingen auch der Fall sein, nach Gloyer (18) soll sie sogar hier mehrere Jahre betragen können. Spätinfektionen an den Sämlingswurzeln können am Ende des ersten Jahres aber auch noch so geringe Gewebewucherungen hervorgerufen haben, daß sie, teilweise jedenfalls, zu übersehen sind und erst im zweiten Jahre zu deutlich sichtbarer Größe heranwachsen.

Die Auswertung der Freilandversuche ergab, daß alle quecksilberhaltigen Mittel, wie Sublimat, Abavit, Ceresan, Uspulun und von den übrigen Mitteln allein der elementare Schwefel im Boden den Wurzelkropfbefall der Wildlinge zahlenmäßig verringert hatten (s. Tab. 21—23). Demnach eignen sich für die Bekämpfung nur solche Mittel, die längere Zeit im Boden erhalten bleiben und deren bakterizide Wirkung die Wurzeln während der Hauptinfektionszeit — also von Anfang Mai bis Ende Juli schützt. Die anderen im Boden leicht zersetzlichen oder flüchtigen Mittel, wie Säuren, Phenol, Formalin u. a. verursachen nur eine schnell vorübergehende Entseuchung des Bodens, weshalb nach kurzer Zeit die Verseuchung der desinfizierten oberen Bodenschichten durch Pseud. tumefaciens aus den unteren oder seitlichen Bodenschichten, durch die Luft und durch Arbeitsgeräte wieder erfolgen kann. Da nach unserer Feststellung (s. oben) noch zu Anfang August erfolgte Wurzelinfektionen an Birnen in demselben Jahre Tumoren liefern können, so kann eine im März/April ausgeführte, nur wenige Wochen anhaltende Bodenentseuchung niemals eine zuverlässige Bekämpfungsmaßnahme gegen den Wurzelkropferreger darstellen.

Tab. 21. Die Wirkung der Bodenbehandlung mit Abavit-Naßbeize auf den Wurzelkropfbefall von Kernobstwildlingen (B.R.A.-Versuche 1936).

Bodenbehandlung mit Abavit	Birnen				Äpfel				Gesamtzahl der untersuchten Pflanzen[1])
	% gesunde	% Befall an diesjährigen Wurzeln	% Befall an alten Wurzeln	% eingegangene	% gesunde	% Befall an diesjährigen Wurzeln	% Befall an alten Wurzeln	% eingegangene	
unbehandelt	18	39	4	39	4	86	4	6	490
gestreut, 24 g/qm . . .	20	12	4	64	25	42	12	21	210
gestreut, 60 g/qm . . .	26	3	3	68	46	29	11	14	140
gestreut, 120 g/qm . .	63	18	—	19	41	15	7	37	140
0,2proz. Lösung, 12 l/qm	35	26	21	18	30	51	9	9	140
0,5proz. Lösung, 12 l/qm	48	21	3	28	28	39	17	16	140
1,0proz. Lösung, 12 l/qm	32	16	—	52	50	18	15	17	140

[1]) Je zur Hälfte Apfel- und Birnenwildlinge.

Die auf dem Dahlemer Versuchsfeld durchgeführten Versuche mit Abavit-Naßbeize als Bodendesinfektionsmittel sind nur als Orientierungsversuche zu werten, da die Wildlinge infolge später Aufschulung unregelmäßig anwuchsen und nur schwache Pflanzen lieferten. Das Mittel wirkte in Lösung dem Kropfbefall geringer entgegen als gestreutes Salz, weil letzteres vermutlich infolge langsameren In-Lösunggehens und demzufolge auch langsamerer Auswaschung eine länger anhaltende Desinfektionswirkung ausübte. Die auffälligen Unterschiede in den Zahlen der nicht bewurzelten (eingegangenen) Pflanzen erklären

sich durch die Anlage der Parzellen mit 0,2-, 0,5- und 1proz. Lösung und mit 120 g Salz auf der besseren Bodenpartie der Versuchsfläche im Gegensatz zu den mit 24 g und 60 g Salz, während die Kontrollen auf dem guten und schlechten Boden gleichmäßig verteilt waren.

Abb. 9. Birnenwildlinge, nach dem Rückschnitt im Frühjahr in 1proz. Ceresan-Lehmbrei getaucht. Aufgenommen Dezember 1936.

Abb. 10. Apfelwildlinge, wie Abb. 9 in 1proz. Ceresan-Lehmbrei getaucht. Aufgenommen November 1936.

Obwohl die Bodendesinfektion mit Abavit gestreut bei Apfelwildlingen mit 60 g/qm, bei Birnenwildlingen mit 120 g/qm, einigermaßen befriedigende Ergebnisse geliefert hatte (s. Tab. 21), dürfte sie angesichts ihrer hohen wirtschaftlichen Unkosten und der in dieser Konzentration auf weniger durchlässigen Böden bereits wurzelschädlichen Wirkung kaum praktische Anwendung finden.

Die quecksilberhaltigen Mittel wirkten im „Tauchverfahren" günstiger als bei der Bodendesinfektion, bei der die trockene Anwendung der pulverisierten Mittel bessere Ergebnisse zeigte als die von Lösungen. Während die Wildlinge durch die Bodendesinfektion mit Sublimat gelitten hatten, weshalb diese im zweiten Versuchsjahr mit geringeren Dosen wiederholt werden mußte, wiesen die im Tauchverfahren verwendeten Mittel

Abb. 11. Apfelwildlinge, nach dem Rückschnitt im Frühjahr in 1proz. Uspulun-Lehmbrei getaucht. Aufgenommen Dezember 1936.

Ceresan und Uspulun-Saatbeize eine fördernde Wirkung auf Bewurzelung und Wachstum der Wildlinge auf. Insbesondere äußerte sich diese günstige Wirkung in der Ausbildung des Wurzelsystems nach der Tauchung in Ceresan-Lehmbrei (Abb. 9 und 10). Die Uspulun-Saatbeize hatte zwar noch mehr Wurzeln an den Wildlingen hervorgerufen (Abb. 11), darunter waren aber viele sehr weiche Haarwurzeln, die beim Herausnehmen der Pflanze aus dem Boden besonders leicht eintrocknen, was beim Umschulen nicht günstig ist. Demnach eignete sich die Ceresan-Naßbeize zur Bekämpfung des Wurzelkropfes noch besser als die bisher allein angewendete Uspulun-Saatbeize. Abavit-Naßbeize besaß die gleiche bakterizide Wirkung schon in der halben Konzentration (0,5%) wie Uspulun-Saatbeize und Ceresan; indessen war die Wurzelbildung nicht so günstig beeinflußt (Abb. 12). Auch das Uspulun-Universal, das in seiner Zusammensetzung von der Uspulun-Saat-

beize völlig abweicht, hatte sich anscheinend auf die Bewurzelung ungünstig ausgewirkt und außerdem in einigen Fällen das getauchte Wurzelgewebe angegriffen.

Die Bedeutung des Tauchens wird in den Abb. 13 und 14 veranschaulicht; Birnen- und Apfelwildlinge waren nach dem „Putzen" o h n e Tauchung in verseuchten Boden gepflanzt worden. Es sind hierbei vor allem die Kröpfe an den Wurzelschnittstellen zu beachten.

Das „Tauchverfahren" war 1936 auf 2 Versuchsfeldern mit lehmigem Sandboden und trockenem Klima geprüft worden. Diese Untersuchungen sollten deshalb im zweiten Versuchsjahr gleichzeitig auf humusreichere feuchte Sandböden der norddeutschen Baumschulen ausgedehnt werden.

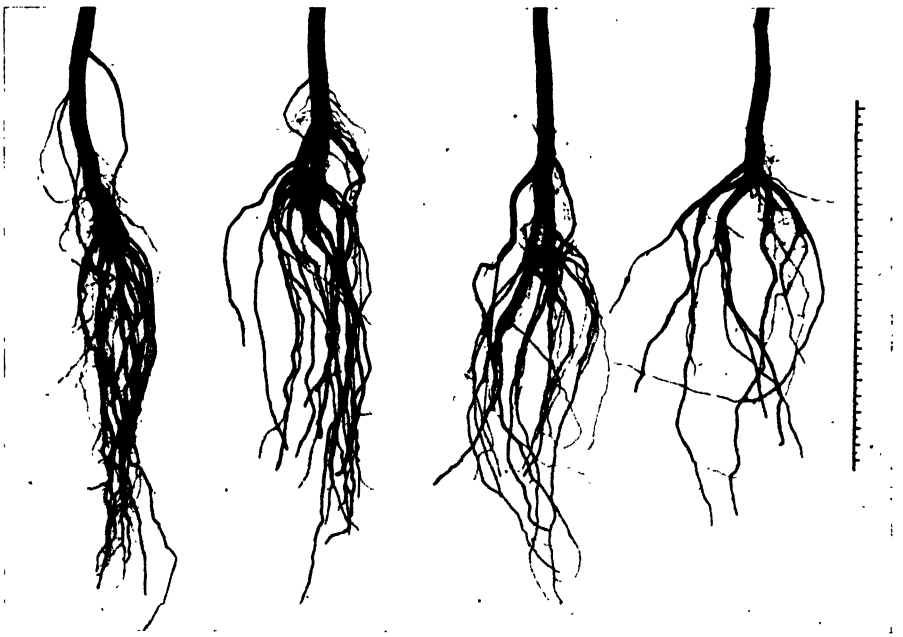


Abb. 12. Apfelwildlinge, nach dem Rückschnitt im Frühjahr in 0,5proz. Abavit-Lehmbrei getaucht. Aufgenommen November 1936.

Von allen zur Bodendesinfektion angewandten Mitteln hatte 1936 das S u b l i m a t den Wurzelkropfbefall zahlenmäßig am meisten verringert. Wird die Wirkung der 0,2-proz. Sublimatlösung, die den Wuchs der Wildlinge noch am wenigsten ungünstig beeinflußt hatte, mit den Ergebnissen der Kontrollen verglichen (s. Tab. 22), so läßt sich einer Herabsetzung des Befalls an frischen, diesjährigen Wurzeln bei B i r n e n w i l d l i n g e n von 64 auf 22%, von 34 auf 7%, von 47 auf 28% und von 48 auf 36% der Gesamtzahl an Versuchspflanzen feststellen. Auch der Befall der älteren Wurzeln war durch das Sublimat deutlich herabgesetzt. Die sauren und die nassen Böden beeinträchtigten nicht nur den Wuchs der Birnenwildlinge nachteilig, sondern setzten hier auch die infektionshemmende Wirkung des Sublimats herab. Letzteres ist deswegen bemerkenswert, weil bekannt ist, daß sonst die bakterizide Wirkung des Sublimats in saurer Lösung sich steigert.

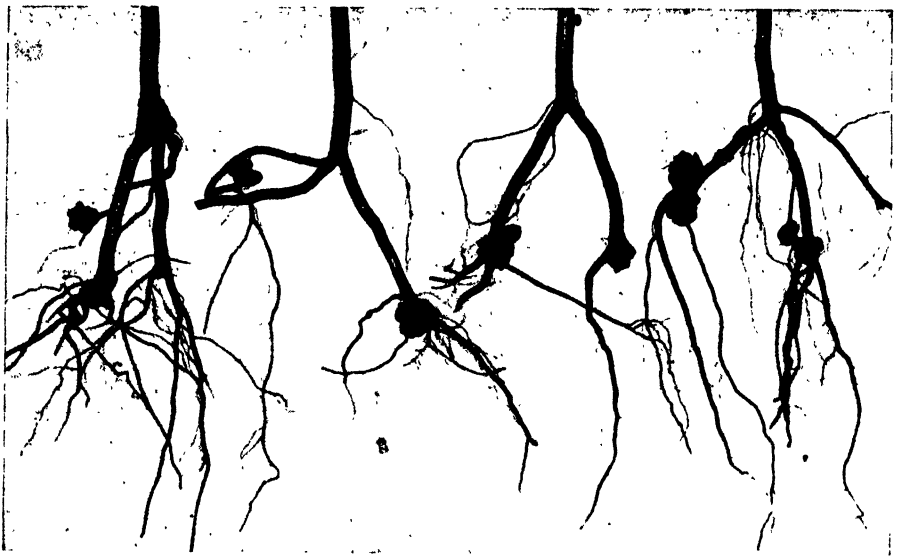


Abb. 13. Birnenwildlinge, nach dem Rückschnitt im Frühjahr nicht getaucht. Aufgenommen Dezember 1936.

Abb. 14. Apfelwildlinge, nach dem Rückschnitt im Frühjahr nicht getaucht. Aufgenommen Dezember 1936.

Bei den Apfelwildlingen war die gleiche Tendenz nicht zu beobachten. Im sandigen Lehm und im humosen Sand, in denen der Befall der Äpfel selbst auf den Kontrollparzellen gering war, wirkte sich die Sublimat-

behandlung nur wenig aus, dagegen war sie auf den sauren und nassen Böden eine günstige, was vielleicht dadurch erklärt werden kann, daß die Apfelwildlinge ohne Schaden höhere Säuregrade ertragen können.

Tab. 22. Die Wirkung der Bodenbehandlung mit Sublimat auf den Wurzelkropfbefall von Kernobstwildlingen (Freilandversuche 1936).

Baumschule	Bodenbehandlung mit Sublimat	Birnen				Äpfel				Gesamtzahl der untersuchten Pflanzen[1])
		% gesunde	Befall an diesjährigen Wurzeln	Befall an alten Wurzeln	% eingegangene	% gesunde	Befall an diesjährigen Wurzeln	Befall an alten Wurzeln	% eingegangene	
I (lehmiger Sand)	unbehandelt	—	—	—	—	43	23	3	31	300
	gestreut, 60 g/qm . . .	—	—	—	—	39	7	3	51	300
	0,2-proz. Lösung, 12 l/qm	—	—	—	—	41	14	3	42	300
	0,5-proz. Lösung, 12 l/qm	—	—	—	—	44	8	—	48	300
II (sandiger Lehm)	unbehandelt	24	64	12	—	56	23	21	—	700
	gestreut, 60 g/qm . . .	80	17	3	—	67	20	13	—	200
	0,2-proz. Lösung, 12 l/qm	64	22	7	7	58	20	21	1	100
	0,5-proz. Lösung, 12 l/qm	33	10	1	56	68	13	13	6	100
III (saurer, humoser Sand)	unbehandelt	27	47	15	11	28	59	13	—	300
	0,2-proz. Lösung, 12 l/qm	50	28	3	19	59	36	4	1	300
	0,5-proz. Lösung, 12 l/qm	52	11	2	35	57	19	7	17	300
IV (feuchter humoser Sand)	unbehandelt	25	48	27	—	20	55	25	—	500
	0,2-proz. Lösung, 12 l/qm	53	36	11	—	62	30	8	—	300
	0,5-proz. Lösung, 12 l/qm	87	12	1	—	66	23	11	—	300
V (humoser Sand)	unbehandelt	48	34	16	2	87	6	1	6	300
	0,2-proz. Lösung, 12 l/qm	85	7	1	7	82	7	—	11	300
	0,5-proz. Lösung, 12 l/qm	56	4	—	40	80	4	—	16	300

[1]) Je zur Hälfte Apfel- und Birnenwildlinge.

Die stärkere Sublimatgabe (0,5-proz. Lösung bzw. 60 g/qm gestreutes Salz) wies zwar eine höhere infektionshemmende Wirkung auf; jedoch war mit der prozentual stärkeren Abnahme des Befalls mehrfach auch wieder eine weit größere Zunahme an eingegangenen, also geschädigten Apfel- und Birnenwildlingen verbunden.

Bei der Auswertung der Schwefelversuche (s. Tab. 23) ließ sich zunächst feststellen, daß in 3 Baumschulen die Birnenwildlinge, dagegen nur in einer Baumschule die Apfelwildlinge durch die Bodenbehandlung mit Schwefel, günstig beeinflußt worden waren. So wurde der Tumorbefall an den frischen Wurzeln der Birnen im jeweils günstigsten Falle von 64 auf 34%, von 47 auf 19%, von 48 auf 27% und von 34 auf 17% herabgesetzt. Eine gleich günstige Wirkung auf die Apfelwildlinge war nicht oder doch nur vereinzelt feststellbar. Der bei Apfel und Birne unterschiedliche Einfluß des Schwefels auf den Wurzelkropfbefall scheint darauf hinzudeuten, daß die infektionshemmende Wirkung des Schwefels nicht allein auf einer Desinfektionswirkung seiner Oxydationsprodukte beruht, sondern noch andere Faktoren eine Rolle spielen, wie sie bei dem Abschnitt „Topfversuche" diskutiert worden sind. Die Schwefelwirkung auf dem nassen humosen Sand-

boden war hinsichtlich der Infektionsherabsetzung an jüngeren Wurzeln sowohl bei den Birnen- als auch den Apfelwildlingen, mit einer Ausnahme, ausgesprochen schlecht; der Befall war sogar stärker als an den Pflanzen der Kontrollparzellen.

Auf den jeweils gleichbehandelten Parzellen einer Versuchsfläche war die Schwefelwirkung keineswegs immer einheitlich.

Tab. 23. Die Wirkung der Bodenbehandlung mit elementarem Schwefel auf den Wurzelkropfbefall von Kernobstwildlingen (Freilandversuche 1936).

Baumschule	Bodenbehandlung mit Schwefel	Birnen				Äpfel				Gesamtzahl der untersuchten Pflanzen[1])
		% gesunde	Befall an diesjährigen Wurzeln	Befall an alten Wurzeln	% eingegangene	% gesunde	Befall an diesjährigen Wurzeln	Befall an alten Wurzeln	% eingegangene	
II (sandiger Lehm)	unbehandelt	24	64	12	—	56	23	21	—	700
	100 g/qm	44	40	16	—	74	16	10	—	300
	200 g/qm	51	34	15	—	52	23	25	—	300
	300 g/qm	44	38	18	—	51	21	28	—	300
III (saurer, humoser Sand)	unbehandelt	27	47	15	11	28	59	13	—	300
	100 g/qm	40	37	12	11	45	45	9	1	300
	200 g/qm	49	28	9	14	55	32	12	1	300
IV (feuchter, humoser Sand)	unbehandelt	25	48	27	—	20	55	25	—	500
	100 g/qm	28	65	7	—	4	77	19	—	300
	200 g/qm	52	27	21	—	24	58	18	—	300
V (humoser Sand)	unbehandelt	48	34	16	2	87	6	1	6	300
	100 g/qm	67	17	11	5	88	3	1	8	300
	200 g/qm	61	28	7	4	87	3	—	10	300
VI (humoser Sand, baumschulmüde)	unbehandelt	—	—	—	—	74	10	16	—	1200
	100 g/qm	—	—	—	—	83	12	5	—	800
	200 g/qm	—	—	—	—	81	7	12	—	800
	300 g/qm	—	—	—	—	74	6	20	—	800

[1]) Je zur Hälfte Apfel- und Birnenwildlinge.

Eine gewisse Erklärung findet diese Erscheinung, wenn die p_H-Werte der Schwefelparzellen miteinander verglichen werden. Alle Schwefelparzellen, auf denen die Befallszahl nur wenig oder gar nicht herabgedrückt worden war, wiesen bei der Herbstmessung den annähernd gleichen p_H-Wert wie die unbehandelten Kontrollparzellen auf. Somit hatte auf einzelnen Parzellen nur eine schwache Oxydation des Schwefels — wohl infolge nicht genügend feiner Verteilung des Schwefels im Boden, es waren beim Nachgraben noch zahlreiche „Klumpen" von Schwefel vorhanden — stattgefunden, weshalb keine für eine bakterizide Wirkung ausreichende Schwefelsäurebildung zustandegekommen war.

Die Bodenbehandlung mit elementarem Schwefel hatte im Vergleich zu der Bodendesinfektion mit Sublimat den Wurzelkropfbefall zahlenmäßig nicht so stark verringert.

1937.

Um die Wirkung des Schwefels bzw. des Schwefels in Kombination mit Schwefelbakterienerde auf die Reaktion des Freilandbodens genauer verfolgen zu können, wurden 1937 auf dem Versuchsfeld von Zeit zu Zeit von den entsprechenden Parzellen und in weiteren Abständen auch in den Baumschulen Bodenproben zu p_H-Messungen entnommen. In Abb. 15 und 16 sind die Durchschnittswerte von je 3 gleich behandelten Parzellen eingetragen.

Aus ihnen lassen sich die jeweiligen Reaktionsänderungen gegenüber der Kontrolle leicht ersehen. Auf der Abszisse sind die Daten der Messungen vom 8. 5. bis 12. 10. 1937, auf der Ordinate die p_H-Werte von 1—8 eingetragen.

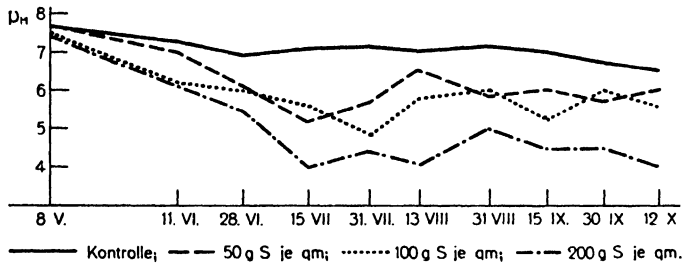


Abb. 15. Die Wirkung verschiedener Mengen von Schwefel auf die Reaktion des Bodens. Freilandversuch.

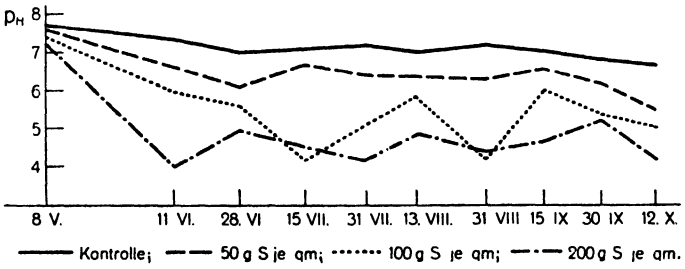


Abb. 16. Die Wirkung verschiedener Mengen von Schwefel auf die Reaktion des Bodens bei gleichzeitiger Zuführung von Schwefelbakterien zu diesem Freilandboden.

Mit 50 g/qm Schwefel allein war die Reaktion bis 11. 6. kaum abgefallen, sank bis 15. 7. auf p_H 5,2 und stieg dann wieder. Mit 100 g/qm Schwefel sank das p_H anfänglich schneller und erreichte langsam den Tiefpunkt von p_H 4,8, stieg dann aber wieder bis etwa p_H 6,0 herauf. Diese zeitliche und etwas stärkere Reaktionsverschiebung schien günstiger als diejenige mit 50 g/qm Schwefel, während mit 200 g/qm der Reaktionsabfall bis auf p_H 4 erfolgte, und damit die Versäuerung einen Grad erreicht hatte, der auf das Pflanzenwachstum sich schädlich auswirken konnte.

Bei gleichzeitiger Verabreichung von Schwefel mit Schwefelbakterienerde fiel mit 50 g/qm Schwefel das p_H zunächst ebenfalls wenig ab und hatte Ende Juni mit p_H 6,1 einen „Tiefpunkt" erreicht, von dem an es dann wieder ein wenig anstieg und erst Anfang Dezember etwas darüber hinaus abfiel. Dieser geringe Reaktionsabfall während der Vegetation genügte aber nicht,

um die Virulenz von Pseud. tumefaciens zu verringern. Das zeigte sich in den Untersuchungen über den Kropfbefall.

Mit 100 g/qm Schwefel fiel das p_H anfänglich nur ein wenig schneller und hatte Ende Juni ein p_H etwas unterhalb 6, dagegen einen Tiefpunkt von p_H 4,2 Mitte Juli erreicht, der sich hier nicht nachteilig auf das Pflanzenwachstum geltend gemacht hatte, weil die Reaktion schnell wieder anstieg. Mit 200 g/qm Schwefel war p_H 4 aber bereits am 11. 6. erreicht und stieg erst Ende September wieder über p_H 5. Es ließen sich auf dem Versuchsfeld vorwiegend an Birne Schädigungen feststellen, die bei diesem anhaltend niedrigen p_H durchaus verständlich erscheinen.

Messungen von mit Schwefel bzw. Schwefel + „Schwefelbakterienerde" versetzten Böden aus verschiedenen Baumschulen ergaben zwar Abweichungen von denen des Versuchsgeländes der Biologischen Reichsanstalt, grundsätzlich dürften aber die Reaktionen gleichlaufend sein. Vorausgesetzt ist dabei, daß bei Versuchsbeginn die Reaktion der Böden in der Nähe des Neutralpunktes liegt. So wurden z. B. in einer Baumschule bei den Kontrollparzellen im Laufe des Versuches 1937 p_H-Werte von 5,5—5,0 gemessen. Mit 50 g/qm Schwefel war das p_H am 17. 6. bereits auf 3,7 gefallen, mit 100 g/qm Schwefel + „Schwefelbakterienerde" aber zum gleichen Zeitpunkt schon unter p_H 2. Es wird also darauf zu achten sein, daß die Reaktion des mit Schwefel zu behandelnden Bodens nicht unter p_H 6 liegt.

Aus der großen Zahl von Versuchsergebnissen des Jahres 1937 sollen hier einige wenige wiedergegeben werden. In Tab. 24 und 25 sind Befunde von 2 Baumschulen zusammengestellt, die deswegen einigermaßen vergleichbar sind, weil es sich bei dem Boden der einen Baumschule um einen lehmigen Sand (I) und bei dem der anderen um einen sandigen Lehm (II) handelt und die Versuchsflächen beider Baumschulen etwa gleich stark verseucht waren, wie das die Kontrolle ausweist. Die Prozentzahlen der Tabelle sind stets Mittelwerte von mehreren Parzellen.

In Baumschule I, deren Versuchsfläche im Frühjahr bereits eine ganz schwach saure Reaktion zeigte, war mit 200 g/qm Schwefel die maximale Dosis überschritten. Die Anzahl der gesunden Pflanzen war zwar größer, die Nachteile bestanden aber in einem höheren Ausfall an Pflanzen und der starken Beeinträchtigung der Länge derselben. Infolge der ungünstigeren Reaktion war aber auch der Erfolg der 50 und 100 g/qm Schwefelstreuung bei den Birnen geringer. Die Äpfel zeigten sich weniger reaktionsempfindlich.

Wurde Schwefel gestreut und das Wildlingsmaterial außerdem in 1proz. Uspulun-Lehmbrei getaucht, so war bis 100 g/qm Schwefel die Wirkung sehr zufriedenstellend und teilweise besser, als wenn nur in Uspulun getaucht worden wäre.

100 g/qm Schwefel mit Schwefelbakterienerde zusammengegeben, hat hier stärker gewirkt als Schwefel allein, und zwar sehr wahrscheinlich deswegen, weil der Boden stark gepuffert war. Daß es sich hier um eine seltene Ausnahme handelt, zeigen die Ergebnisse in Baumschule II, die auch denen der übrigen entsprechen.

Schwefel + „Schwefelbakterienerde" und Uspulun-Tauchung hat keine Vorteile erkennen lassen.

Sublimat gestreut, hatte eine günstige Wirkung wie im Vorjahre. Bei 20 g/qm zeigte sich jedoch bei Birne eine geringe Schädigung, die genau in

Tab. 24. Die Wirkung verschiedener Bodenbehandlung bzw. der „Tauchung" von Kernobstwildlingen auf den Wurzelkropfbefall in Baumschule I.

Mittel	Birne						Apfel					
	Gesund %	I. Wahl %	krank %	Ausfall %	Länge in cm	Stand d. W.[2])	gesund %	I. Wahl %	krank %	Ausfall %	Länge in cm	Stand d. W.
Kontrolle	41	14	53	6	50	3—4	51	44	43	6	62	3—4
Sublimat 10 g/qm	65	32	29	6	52	4	79	69	20	1	67	4
Sublimat 20 g/qm	69	31	20	11	47	3—4	79	65	14	7	67	3—4
Schwefel 50 g/qm April gestr.	53	24	37	10	47	3—4	78	62	18	4	57	3—4
Schwefel 100 g/qm April gestr.	55	23	39	6	45	3	74	59	23	3	60	3
Schwefel 200 g/qm April gestr.	61	22	13	26	40	3	83	63	11	6	53	3
Schwefel 50 g/qm + 1% Uspulun	82	58	18	0	48	4	86	77	9	5	65	4
Schwefel 100 g/qm + 1% Uspulun	80	47	15	5	43	3	82	69	18	0	58	3
Schwefel 200 g/qm + 1% Uspulun	72	53	10	18	47	3	94	72	1	5	62	3
Schwefel 50 g/qm + S.B.E.[1])	63	25	25	12	55	3—4	73	61	13	14	72	3—4
Schwefel 100 g/qm + S.B.E.	74	27	22	4	47	3	83	54	13	4	60	3
Schwefel 200 g/qm + S.B.E.	72	25	18	10	43	2—	87	48	9	5	57	2—
Schwefel 50 g/qm + S.B.E. + 1% Uspulun	78	58	16	4	50	3—4	96	81	2	2	67	3—4
Schwefel 100 g/qm + S.B.E. + 1% Uspulun	72	52	17	11	53	3—4	91	78	8	1	72	3—4
Schwefel 200 g/qm + S.B.E. + 1% Uspulun	96	48	3	1	47	3—4	89	62	3	8	62	3—4
Abavit 0,2%	89	65	9	2	48	4	82	72	6	12	62	4
Abavit 0,5%	83	43	6	11	45	4	92	67	1	7	60	4
Abavit 1%	73	26	1	26	38	3—4	71	34	1	28	50	3—4
Ceresan 1%	87	58	6	7	53	4	89	83	3	8	70	4
Uspulun 1%	74	51	17	7	47	3—4	84	71	16	0	60	3—4
Uspulun 1% + Schwefel 1%	72	41	9	9	45	3—4	83	65	12	5	53	3—4

[1]) S.B.E. = Schwefelbakterienerde.

[2]) 2 = schlechter Stand; 3 = mäßiger Stand; 4 = guter Stand.

Tab. 25. Die Wirkung verschiedener Bodenbehandlung bzw. der „Tauchung" von Kernobstwildlingen auf den Wurzelkropfbefall in Baumschule II.

Mittel	Birne						Apfel					
	gesund %	I. Wahl %	krank %	Ausfall %	Länge in cm	Stand	gesund %	I. Wahl %	krank %	Ausfall %	Länge in cm	Stand
Kontrolle	42	21	40	18	50	3—4	51	39	44	4	67	3—4
Schwefel 50 g/qm + 1% Ceresan	67	33	10	23	43	3—4	80	70	17	3	65	3—4
Schwefel 100 g/qm + 1% Ceresan	68	32	7	25	42	3—4	82	57	15	3	62	3—4
Schwefel 200 g/qm + 1% Ceresan	73	45	10	17	38	3—4	83	69	17	0	57	3—4
Schwefel 50 g/qm + S.B.E.	38	12	23	39	35	3	59	50	37	4	60	3
Schwefel 100 g/qm + S.B.E.	30	9	35	35	37	3	50	36	46	4	57	3
Schwefel 200 g/qm + S.B.E.	43	13	17	40	35	3	48	37	40	12	57	3
Schwefel 50 g/qm + S.B.E. + 1% Ceresan	71	35	8	21	40	3—4	83	64	12	5	67	3—4
Schwefel 100 g/qm + S.B.E. + 1% Ceresan	73	27	7	20	45	3	85	59	7	8	72	3
Schwefel 200 g/qm + S.B.E. + 1% Ceresan	58	16	16	26	37	3	76	50	18	6	62	3
Schwefel 50 g/qm + S.B.E. + 200 g/qm $CaCO_3$	37	16	43	20	40	3—4	47	41	50	3	63	3—4
Schwefel 100 g/qm + S.B.E. + 400 g/qm $CaCO_3$	40	11	24	36	32	3	53	46	45	2	52	3
Schwefel 200 g/qm + S.B.E. + 600 g/qm $CaCO_3$	28	14	43	29	37	3	49	33	49	2	52	3
Abavit 0,5%	80	39	3	17	42	4	92	74	6	2	65	4
Abavit 1%	75	34	7	18	43	4	92	75	7	1	62	4
Ceresan 1%	65	35	11	24	37	3—4	92	81	6	2	60	3—4
Ceresan 2%	72	25	8	20	38	3—4	82	63	11	7	60	3—4
Uspulun 2%	71	21	7	22	37	3	80	58	14	6	60	3
Schwefel 1%	27	9	16	57	35	3	53	42	38	9	60	3
Schwefel gestäubt	29	11	30	41	35	3—4	57	35	39	4	65	3—4
Schwefel 1% + Abavit 0,5%	72	24	5	23	37	4	82	58	13	5	62	4
Schwefel 1% + Ceresan 1%	78	21	7	15	35	4	84	61	11	5	62	4
Schwefel 1% + Uspulun 2%	73	28	9	18	38	3—4	82	67	16	2	58	3—4
Ungedüngte Parzellen:												
Abavit 0,5%	85	45	7	8	45	4	86	84	14	0	70	4
Ceresan 1%	74	53	16	10	45	4	92	89	8	0	80	4
Uspulun 2%	75	20	9	16	35	3—4	94	70	4	2	58	3—4

gleicher Richtung lag wie die zu hohe Konzentration des Schwefels: größerer Ausfall an Pflanzen und Zurückbleiben im Wuchs.

Abavit als Tauchmittel zeigte in der geringsten angewandten Konzentration von 0,2% eine sehr gute Wirkung in Hinsicht auf die Anzahl gesunder (89%) und verkaufsfähiger (65%) Birnenwildlinge. Die Wurzelbildung war nicht gefördert wie bei Ceresan und Uspulun, sie war aber auch nicht schlechter als bei gesunden unbehandelten Wildlingen. 1% Abavit zeigte schon stärkere Schädigungen.

Eine wiederum sehr zufriedenstellende Wirkung hatte die Tauchung in 1% Ceresan, sowohl was die Zahl der gesunden und verkaufsfähigen Wildlinge anbetrifft, als auch ihre durchschnittliche Länge.

Uspulun 1% und Schwefel 1% in Lehmbrei angerührt und kombiniert als Tauchmittel angewandt, erwies sich weniger günstig als Uspulun allein.

Was die Apfelwildlinge anbetrifft, so decken sich die diesjährigen Feststellungen mit den vorjährigen. Apfelwildlinge sind allgemein weniger empfindlich gegenüber den untersuchten Pflanzenschutzmitteln als die Birnenwildlinge und reagieren auf Schwefelgaben nicht immer so stark durch verminderten Kropfbefall wie die letzteren. Wenn bei den Apfelwildlingen z. B. die höheren Schwefelgaben von 200 g/qm noch recht günstig gewirkt haben, so sei dennoch vor Anwendung höherer Konzentrationen als 100 g/qm gewarnt, weil sie unter Umständen, die nicht willkürlich zu regeln sind, wie z. B. langanhaltende Regenfälle, auch deutliche Schäden verursachen können. Abgesehen davon kann auch eine bis tief in den Herbst hinein anhaltende Versauerung des Bodens die Folge sein.

In Baumschule II machte sich die Gabe von 200 g/qm Schwefel teilweise auch bereits nachteilig geltend. Wenn das bei den Birnen mit Schwefel + Ceresan nicht so deutlich zum Ausdruck kommt — nur die Längenmaße zeigen es —, so scheint das darin begründet, daß merkwürdigerweise die Reaktion auf diesen Parzellen nur sehr langsam absank; am 5. 7. war die Reaktion p_H 4,4, am 15. 11. p_H 4,0. Dagegen kommt der Nachteil der Zuführung von Schwefelbakterienerde zu den Schwefelparzellen hier sehr deutlich zum Ausdruck. Eine gleichzeitige Tauchung mit Ceresan hatte die schädliche Wirkung größerer Schwefelgaben nicht aufhalten können.

Wurde den Versuchsparzellen Schwefel, Schwefelbakterienerde und Kalk zugesetzt, so war die Wirkung noch ungünstiger.

Wurde Schwefel 1-proz. als Tauchmittel allein angewandt oder wurden die Wurzeln nach Rückschnitt nur mit Schwefel bestäubt, dann zeigten sich starke Schäden. Bei Kombination von 1% Schwefel mit 1% Abavit, Ceresan oder Uspulun, war die nachteilige Wirkung des Schwefels an den Wurzeln weitgehend eliminiert, weil die quecksilberhaltigen Mittel die Schwefelbakterien in ihrer Entwicklung gehemmt hatten.

Daß die Tauchmittel auf den ungedüngten Parzellen besser zur Wirkung kamen als auf den gedüngten, deutet darauf hin, daß ein hoher Gehalt an Humus, vielleicht auch an Stickstoff im Boden die günstige Wirkung etwas herabzumindern vermag. Uspulun 2-proz. als Tauchmittel verwandt, ist bereits zu stark. Es hat zwar die Befallsprozente wesentlich herabgedrückt, an verkaufsfähiger Ware wurde aber auf den ungedüngten wie gedüngten Parzellen nicht mehr als 20—21% erreicht.

Für die Äpfel galt in der zweiten Baumschule dasselbe, was über sie in der ersten gesagt wurde.

Auf stark verseuchten Feldstücken, die mehrfach Kernobstgehölze getragen hatten, versagten alle Tauchmittel und auch der Schwefel. Wirksam war nur noch Sublimat, gestreut:

Tab. 26. Desinfektionsversuch mit Sublimat auf stark verseuchtem Boden.

	Birne		Apfel	
	gesund	krank	gesund	krank
Kontrolle	8%	90%	31%	57%
$HgCl_2$ 15 g/qm . .	51%	27%	75%	7%

Bei der richtigen Auswertung der zahlreichen Parzellenversuche sind nicht immer die in den Tabellen angegebenen Einzelergebnisse ausreichend gewesen, es war manchmal die Lage der Parzellen zueinander, die nicht ganz gleichmäßige Bodenbeschaffenheit der Versuchsfläche derselben Baumschule, geringe Höhenunterschiede innerhalb derselben und vieles andere mehr zu berücksichtigen. Es sind deshalb auch nicht die im wesentlichen von den Baumschulen I und II herausgegriffenen Befunde im einzelnen für alle anderen gültig. Jedoch kann auf Grund 2jähriger Versuchsausführung und der dabei gemachten Erfahrungen in den gesamten Baumschulen folgendes gesagt werden: Die beste und sicherste Wirksamkeit haben die quecksilberhaltigen Pflanzenschutzmittel gezeigt, und zwar als Streumittel für den Boden das Sublimat und als Tauchmittel Ceresan, Abavit und Uspulun. Sehr gut wirkte fast überall 1-proz. Ceresan als Tauchmittel. Es war dem Uspulun überlegen, bei dem sich in einer Konzentration von 2% als Tauchmittel bereits Beeinträchtigungen im Wuchs bemerkbar machen können. Es ist möglich, daß Ceresan 0,5-proz. angewandt, auch bereits eine befriedigende Wirkung haben würde, doch ist diese Konzentration von uns nicht geprüft worden. Abavit ist am besten 0,2-proz. anwendbar. Bei dieser geringen Konzentration wurden Schäden irgendwelcher Art nicht festgestellt. Schwefel, bis 100 g/qm, erreicht nicht die Wirkung des Sublimats und ist zudem allein angewandt nicht wirtschaftlich.

Seine Wirkung wurde im allgemeinen auch nicht verbessert, wenn dem Boden zusammen mit diesem oder später eine Anreicherung von Schwefelbakterien zugegeben wurde. Vielfach zeigte sich dann sogar eine Depression. Eine gleichzeitige Verabreichung von Kalk mit dem Schwefel, um eine Reaktionsänderung des Bodens durch die Schwefeloxydation zu verhindern, hatte zumeist einen noch stärkeren Befall zur Folge, als er auf den unbehandelten Parzellen zu verzeichnen war. Daran änderte auch die gleichzeitige Zuführung von Schwefelbakterien nichts. Mehr als 100 g/qm Schwefel erwies sich als nicht vorteilhaft, vielfach zeigten sich stärkere Ausfälle an Wildlingen, vor allem bei Birnen auf den entsprechenden Parzellen, und die Pflanzen blieben im Wuchs zurück.

Wurde dem Boden Schwefel[1]) zugesetzt und wurden außerdem die Wildlinge in Ceresan, Abavit oder Uspulun getaucht, so wurde zwar vielfach der Erfolg der Tauchmittel nicht verbessert, die Ergebnisse der Einzelparzellen besonders bei den Birnenwildlingen waren aber ausgeglichener. Diese Kom-

[1]) Die Wurzelkropfbekämpfung unter Verwendung von Schwefel kommt nur für Obstgehölze in Frage, nicht etwa für Rosen, die bekanntlich sehr empfindlich gegen Schwefel sind.

bination von Bodendesinfektion und Tauchung hat sich aber nur bewährt auf Böden, die bei Versuchsbeginn nicht sauer, andererseits aber auch nicht zu stark gepuffert waren. Die Tauchung gewährt anfänglich den Wildlingen einen ausreichenden Schutz gegen Infektion vom Boden aus. Dann setzt die Schwefelwirkung durch ihre Reaktionsverschiebung im Boden nach der sauren Seite hin ein und hemmt die Infektion in den Sommermonaten. Der Reaktionsabfall darf aber nicht zu stark sein, da sonst die Wildlinge leiden, vornehmlich die Birnen, die sich überhaupt als viel empfindlicher erwiesen haben als die Äpfel. Ist die Pufferung des Bodens zu stark, so unterbleibt die Reaktionsverschiebung im gewünschten Ausmaß und die Schwefelanwendung ist zwecklos.

Zusammenfassung und Schlußfolgerung.

Es wurde untersucht, ob die Vorbeugungs- und Bekämpfungsmaßnahmen gegen den Erreger des Wurzelkropfes der Obstgehölze, die in Deutschland bisher im wesentlichen in der Tauchung der „geputzten" Pflanzen mit ihren Wurzeln in einen Uspulunlehmbrei unmittelbar vor dem Aufschulen bestanden, verbessert werden könnten, insbesondere ob auf die Verwendung des quecksilberreichen Uspuluns in Zukunft verzichtet werden könne.

Die für die Vorarbeiten notwendige Gewinnung virulenter Reinkulturen von Pseud. tumefaciens gelang nicht auf direktem, sondern nur auf indirektem Wege aus Apfel- und Birnentumoren. Sämtliche 85 direkt aus dem kranken Material in der üblichen bakteriologischen Weise herausgezüchteten Stämme erwiesen sich im Infektionsversuch als avirulent.

Vorübergehendes Belassen virulenter Kulturen in einem aus den äußeren Gewebepartien von Apfeltumoren frisch hergestellten Auszug hatte eine merkliche Virulenzschwächung oder einen völligen Virulenzverlust im Gefolge.

In Bestätigung der Angaben von Longley und Mitarbeitern konnte ein Virulenzschwund auch durch längeres Fortzüchten in α-Alanin-Nährlösung erreicht werden.

Stämme von Pseud. tumefaciens verschiedener Herkunft, selbst solche, die sich serologisch nicht voneinander unterscheiden lassen, können für verschiedene Wirtspflanzen verschieden pathogen sein.

Auf die zahlreichen Infektionsmöglichkeiten wird eingegangen, insbesondere werden Belege für die Bedeutung der Lentizellenwucherungen als Eingangspforten für den Erreger erbracht.

In Übereinstimmung mit amerikanischen Befunden wird gezeigt, daß die Inkubationsdauer in Abhängigkeit von der Jahreszeit steht. Sie war im zeitigen Frühjahr 1937 bei Apfel- und Birnenwildlingen am längsten, wurde zum Sommer hin immer kürzer, war Ende Juni/Anfang Juli am kürzesten und verlängerte sich wieder von Ende Juli an zum Herbst hin. Für Birne war im Frühjahr und Herbst die Inkubationsdauer aber weniger lang als für Apfel.

Es gelang nachzuweisen, daß Pseud. tumefaciens über erhebliche Strecken hin vom Infektionsherd aus im gesunden Teil der Wirtspflanze zu „wandern" vermag. Die Züchtung virulenter Kulturen aus Stengelstücken von Datura Tatula, die in Entfernungen bis zu 120 cm vom Infektionsherd aus entnommen waren, war möglich. Aus Wurzelteilen von Obstgehölzen bis zu 8 cm oberhalb des spontan entstandenen Kropfes ließ sich ebenfalls Pseud. tumefaciens isolieren.

Es bietet daher das Abschneiden von Wurzelkröpfen keine sichere Gewähr dafür, daß der nun äußerlich gesunde Wildling auch wirklich frei von Pseud. tumefaciens ist. Kranke nach dem Rückschnitt bis auf das „gesunde" Holz in steriler Erde aufgeschulte Wildlinge zeigten bei der Ernte noch bis zu 35% Befall; der größte Teil war überhaupt eingegangen. Auch andere mechanische Bekämpfungsmaßnahmen erwiesen sich als unzureichend.

Mit etwa 30 000 Apfel- und Birnenwildlingen 1936 durchgeführte Versuche zur Feststellung, ob mit geringeren N-Gaben und stärkeren Gaben an Phosphorsäure oder Kali als sonst üblich, also durch „physiologische" Maßnahmen, der Spontanbefall mit Wurzelkropf sich herabmindern ließ, verliefen völlig ergebnislos. Die Wildlinge der Kontrollparzellen, also derjenigen ohne jeden Zusatz, unterschieden sich am Versuchsende — bis auf eine Ausnahme — nicht von denen, die auf vollgedüngten Parzellen gestanden hatten. Die Düngung in den Baumschulen ist also überreichlich.

Versuche, durch biologische Maßnahmen dem Wurzelkropf zu steuern, erschienen insofern als nicht aussichtslos, als es in steriler Erde gelang, mit Hilfe avirulenter Stämme von Pseud. tumefaciens Virulenzverlust pathogener Stämme herbeizuführen. Entsprechende Freilandversuche, in natürlich verseuchtem Boden durch Zusatz avirulenter Kulturgemische den Befall bei Obstgehölzen herabzumindern bzw. auszuschalten, verliefen jedoch negativ.

Von einer größeren Zahl organischer und anorganischer Präparate, die für eine chemische Bekämpfungsmaßnahme in Frage kamen, erwies sich bei der Vorprüfung im Laboratorium nur ein geringer Teil als brauchbar. Es waren das einige Säuren und säurebildende Mittel, darunter auch der elementare Schwefel.

Bei Versuchen in Erlenmeyerkolben mit Boden, dem z. B. 0,2% Schwefel zugesetzt und der dann mit Schwefelbakterien (Thiobacillus thiooxydans) und mit virulenter Kultur von Pseud. tumefaciens geimpft worden war, sank die Reaktion innerhalb von 5 Wochen bis unter p_H 3 ab. Nach dieser Zeit waren die Kropferreger trotz der Säure lebensfähig, hatten aber ihre Virulenz vollkommen eingebüßt.

Ferner hatten sich bis dahin bewährt: Phenol, Formalin, $HgCl_2$ sowie die Tauchmittel Abavit-Naßbeize, Ceresan-Naßbeize, Uspulun-Saatbeize und Uspulun Universal.

Sie alle wurden in Feldversuchen 1936 und die daraus als brauchbar hervorgegangenen auch 1937 auf dem Versuchsgelände der Biologischen Reichsanstalt und auf natürlich verseuchten Flächen von 5 bzw. 4 norddeutschen, sowie einer kurmärkischen Baumschule geprüft. Dazu waren 1936 erforderlich 50 000 einjährige Apfel- und Birnenwildlinge auf 441 Parzellen und 1937 60 000 einjährige Wildlinge und 4500 krautig pikierte Sämlinge von Apfel und Birne auf 504 Parzellen. Die Desinfektionskraft aller flüchtigen organischen Stoffe war im Freiland nicht ausreichend und von zu kurzer Dauer.

Schwefel, 50—100 g/qm gestreut, war allein nicht voll befriedigend, um den Wurzelkropferreger wirksam zu bekämpfen. Größere Mengen Schwefel waren meist nachteilig für die Pflanzen. Sofern der Boden bereits sauer ist, wenn der Schwefel gestreut wird, können auch schon bei 50 g/qm Schäden auftreten. Kalkung des Bodens bei gleichzeitiger Schwefelgabe war nicht

günstig, vielmehr mußte bereits im Herbst des Vorjahres der Kalk gegeben werden. Gleichzeitige Zuführung von Schwefel und von Schwefelbakterien zum neutralen Boden hat sich auch meist nicht als vorteilhaft erwiesen.

Von den Tauchmitteln bewährte sich Ceresan-Naßbeize 1proz. in Lehmbrei ausgezeichnet und noch besser als Uspulun-Saatbeize, die in 2-proz. Konzentrationen bereits schädlich sein kann. Mit Uspulun-Universal waren die Erfahrungen keine günstigen, so daß es als Bekämpfungsmittel für Wurzelkropf nicht in Frage kommt.

In Saatbeetversuchen zeigte Ceresan (0,5%) 10 l/qm ebenso wie Schwefel, gestreut, 50 g/qm eine den Auflauf der Saat und die vegetative Entwicklung deutlich fördernden Einfluß.

Abavit-Naßbeize wirkte am besten 0,2-proz. Bei dieser geringen Konzentration trat die sonst beobachtete nachteilige Wirkung auf die Wurzelbildung nicht ein.

Auf gering verseuchten Flächen genügt allein die Anwendung von 1-proz. Ceresan, 1-proz. Uspulun-Saatbeize oder 0,2-proz. Abavit-Naßbeize im Tauchverfahren.

Sublimat ($HgCl_2$) 15—20 g/qm gestreut, setzte den Befall auch merklich herab und war das einzige Mittel, das auf stark verseuchten Flächen noch wirksam war. Seine hohe Giftigkeit und seine schwierige Beschaffung erschweren jedoch seine Verwendung im Baumschulbetrieb. Es ist daher ratsam, stärker verseuchte Feldstücke für die Anzucht von Kernobstwildlingen überhaupt auszuschalten.

Eine Bodendesinfektion mit 50—100 g/qm Schwefel in Verbindung mit einer Tauchung der „geputzten" Wildlinge in Ceresan-, Uspulun- oder Abavit-Lehmbrei war aber nützlich auf nicht sehr stark verseuchten Feldstücken.

Durch das „Tauchen" der Wildlinge wird die Gefahr der Infektion beim und kurz nach dem Aufschulen gebannt, während durch den Schwefel im Boden die Reaktion gerade im Sommer mehr ins saure Gebiet verschoben und damit in dieser Zeit die Infektion erschwert wird. Da die günstige Wirkung des Schwefels weitgehend abhängig ist von der Reaktion und der Pufferkraft des zu behandelnden Bodens, ist mit Schwefel vorsichtig zu verfahren.

Dem Forschungsdienst und der Deutschen Forschungsgemeinschaft sei für die Bewilligung und Bereitstellung von Mitteln zur Durchführung vorstehender Untersuchungen auch an dieser Stelle nochmals verbindlichst gedankt.

Literatur.

1. A year's progress in solving farm problems of Illinois. 1926/27. (Fortieth Ann. Rept. for year ended June 30, 1927. 288 p.; ref.: Rev. appl. Mycol. Vol. 7. 1928. p. 428—429.) — 2. A year's service of research in laboratory, barn and field. (Forty-seventh Ann. Rept. Wisconsin Agric. Exper. Stat. 1931. 137 p.) — 3. Biology. Ann. Rept. Dept. of Agric. New South Wales for the year ended 30th June, 1927/28. p. 18—19; ref.: Rev. appl. Mycol. Vol. 8. 1929. p. 154.) — 4. Adams, H. R., Some effects of sulfur on crops and soils. (Soil Science. Vol. 18. 1924. p. 111—115.) — 5. Ames, J. W., Sulfur experiments. (Ohio Sta. Mo. Bull. Vol. 8. 1923. p. 85—90; siehe: Willis, Bibliography of references to the Lit. on the minor elements. 2. edit. 1936.) — 6. Bamberg, R. H., A bacterium antibiotic to Ustilago zeae. (Phytopath. Vol. 20. 1930. p. 140.) — 7. Bamberg, R. H., Bacteria antibiotic to Ustilago zeae. (Phytopath. Vol. 21. 1931. p. 881—890.) — 8. Barbacka, K., Obecny stan badán nad szkodliwością guzowatości drzew owocowych i jej Zwalczaniem. (Rocznik Ochrony Roślin. Vol. 4. 1937. p. 125—128.) — 9. Bouman, A. M., Bestrijding van bacterieele wortelknobbels bij appel en peer. (Tijdschr. Plantenziekt.

Vol. 39. 1933. p. 217—224.) — 10. Chambers, W. H., The growth, hydrogenionconcentration, sugar fermentation, and surface tension of cultures of Pseudomonas tumefaciens and Pseudomonas campestris. (Journ. Cancer Res. Vol. 9. 1925. p. 254—278.) — 11. Dame, F., Pseudomonas tumefaciens (Sm. et Towns.) Stev., der Erreger des Wurzelkropfes in seiner Beziehung zur Wirtspflanze. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 98. 1938. S. 385—429.) — 12. Doran, W. L., Acetic acid as a soil disinfectant. (Journ. Agric. Res. Vol. 36. 1928. p. 269—280.) — 13. Duyfjes, H. G. P., Het Problem der actieve Immunisatie van Planten tegen Pseudomonas tumefaciens Smith en Town. Dissertation Baarn 1935. 100 S. — 14. Faber, K., Ergebnis der Baumschul-Auf-pflanzerhebung. (Die Gartenbauwirtschaft. Nr. 47. 25. Nov. 1937.) — 15. Fischer, H., Wurzelkropf und Uspulun. (Wochenbl. Landesbauernsch. Schlesw.-Holst. Bd. 3. 1936. S. 374—375.) — 16. Gleisberg, W., Kurze Anleitung zur Bekämpfung des Wurzelkropfes der Obstbäume. (Der Obst- u. Gemüsebau. Bd. 73. 1927. S. 26.) — 17. Gleisberg, W., Der Wurzelkropf der Obstbäume. (Sächsisches Gärtnerblatt. Bd. 8. 1928. S. 11—19.) — 18. Gloyer, W. O., Crown gall and hairy root of apples in nursery and orchard. (N. Y. State Agric. Exp. Stat. Geneva. Bull. Vol. 638. 1934. 30 p.) — 19. Groß, E., Die Bekämpfung des Wurzelkropfes (Bacterium tumefaciens). (Lehrmstr. Garten u. Kleintierhof. Bd. 29. 1931. S. 460.) — 20. Händler, E., Der Wurzelkropf und seine Bekämpfung. (Ratschläge f. Haus, Garten, Feld. Bd. 10. 1937. S. 145—148.) — 21. Hamdi, H., Über die Histogenese, Bau und Natur des sog. Pflanzenkrebses und dessen Metastasen. (Ztschr. f. Krebsforschung. Bd. 30. 1930. S. 547—552.) — 22. Hill, J. B., The migration of Bacterium tumefaciens in the tissue of tomato plants. (Phytopath. Vol. 18. 1928. p. 553—564.) — 23. Hill, J. B., Brittingham, W. H., Gibbons, F. P., and Watts, G. W., Further notes on Bacterium tumefaciens and its host relationship. (Phytopath. Vol. 20. 1930. p. 179—186.) — 24. Hornbostel, W., Vorläufige Mitteilung über Wurzelkropfbekämpfung. (Ztschr. f. Pflanzenkrankheiten u. -schutz. Bd. 48. 1938. S. 87—88.) — 25. Husz, B., Beizversuche gegen den Wurzelkropf der Obstgehölze im Jahre 1930. (Növényvèdelem, Budapest. Vol. 7. 1931. p. 128—130.) — 26. Husz, B., Schützt die Beize die Obstbäume gegen den Wurzelkropf? (Kertészeti Lapok. Vol. 44. 1930. p. 96—99; ref.: Ztschr. f. Pflanzenkrankheiten u. -schutz. Bd. 41. 1931. S. 206—207.) — 27. Ivanoff, S. S., and Riker, A. J., Studies on the movement of the crown gall organism within the stems of tomato plants. (Phytopath. Vol. 20. 1930. p. 817—829.) — 28. Johnson, D. E., The antibiosis of certain bacteria to smuts and some other fungi. (Phytopath. Vol. 21. 1931. p. 843—863.) — 29. Kapshuk, A. A., Bacteriological study of crowngall of fruit trees. (Bull. N. Caucasian Inst. for Plant Protect. Vol. 1. [8.] 1933. p. 69—78; engl. Zusammenfassung; ref.: Rev. appl. Mycol. Vol. 12. 1933. p. 516.) — 30. Kießling, L. E., Biologische Maßnahmen zur Unterdrückung des Kartoffelschorfes. (Kühn-Archiv. Bd. 38. 1933. S. 184—199.) — 31. Kordes, H., Neue Ergebnisse über die Entwicklung des Erregers der Mauke an Reben und des Wurzelkropfes der Obstgehölze und deren Bekämpfung. (Nachr. üb. Schädlingsbekämpfung. Ausg. A. Bd. 7. 1932. p. 59—66.) — 32. Leunig, H., Über die bakterizide Wirkung von Ammoniumpersulfat. (Ztschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. 117. 1935. S. 257—262.) — 33. Levine, M., Studies on crown-gall transplants. (Phytopath. Vol. 18. 1928. p. 130.) — 34. Longley, B. J., Berge, T. O., van Lanen, J. M., and Baldwin, J. L., Changes in the infective ability of Rhizobia and Phytomonas tumefaciens induced by culturing on media containing Glycine. (Journ. Bacteriology. Vol. 33. 1937. p. 28—29.) — 35. Magrou, J., Le Bacterium tumefaciens dans les tissus du cancer des plantes. (Compt. Rend. Acad. Sci. Paris. T. 183. 1926. p. 804—806.) — 36. Maney, T. J., Crown gall and apple propagation. (Bienn. Rept. Kansas State Hort. Soc. Vol. 40. 1930. p. 155—161; ref.: Rev. appl. Mycol. Vol. 10. 1931. p. 111.) — 37. Maurer, E., Erfahrungen über den Wurzelkropf. (Die Baumschule. Nr. 6. 25. April 1935.) — 38. McClintock, J. A., Progress report on crown gall experiments conducted at the University of Tennessee Experiment Station. (Tenn. State Hort. Soc. Proc. Vol. 19. 1924. p. 86—88; ref.: Exp. Stat. Rec. Vol. 55. 1926/27. p. 849.) — 39. Muncie, J. H., The effect of crown-gall on young apple and peach trees and longevity of Bacterium tumefaciens in the soil. (Phytopath. Vol. 16. 1926. p. 79.) — 40. Muncie, J. H., and Suit, R. F., Studies of crown-gall, overgrowths and hairy-root on apple nursery stock. (Iowa State Coll. Journ. Sci. Vol. 4. 1930. p. 263—313; ref.: Rev. appl. Mycol. Vol. 9. 1930. p. 596.) — 41. Niemeyer, L., Die durch Pseudomonas tumefaciens (E. F. Smith et Townsend) Stevens verursachte Mauke der Weinreben. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II.

Bd. 92. 1935. S. 116—162.) — 42. Oppenheimer, H. R., Verhütung und Heilung krebsartiger Pflanzengeschwülste. (Angew. Bot. Bd. 8. 1926. S. 8—29.) — 43. Patel, M. K., An improved method of isolating Pseudomonas tumefaciens Sm. and Towns. (Phytopath. Vol. 16. 1926. p. 577.) — 44. Patel, M. K., Longevity of Pseudomonas tumefaciens. Sm. and Towns. in various soils. (Phytopath. Vol. 18. 1928. p. 129.) — 45. Patel, M. K., Strains of Pseudomonas tumefaciens Sm. and Towns. and their prevalence in various soils. (Phytopath. Vol. 18. 1928. p. 129—130.) — 46. Patel, M. K., A study of pathogenic and non-pathogenic strains of Pseudomonas tumefaciens Sm. and Towns. (Phytopath. Vol. 18. 1928. p. 331—343.) — 47. Pinckard, J. A., Physiological studies of several pathogenic bacteria that induce cell stimulation in plants. (Journ. Agric. Res. Vol. 50. 1935. p. 933—952.) — 48. Pinoy, P. E., A propos du cancer des plantes ou crown gall. (Compt. Rend. Acad. Sci. Paris. T. 180. 1925. p. 131.) — 49. Riker, A. J., Some relations of the crowngall organisms to its host tissue. (Journ. Agric. Res. Vol. 25. 1923. p. 119—132.) — 50. Riker, A. J., Some morphological responses of the host tissue to the crowngall organism. (Journ. Agric. Res. Vol. 26. 1923. p. 425—436.) — 51. Riker, A. J., The influence of temperature and of previous infection on the development of crowngall. (Phytopath. Vol. 15. 1925. p. 45.) — 52. Riker, A. J., Studies on the influence of some environmental factors on the development of crowngall. (Journ. Agric. Res. Vol. 32. 1926. p. 83—96.) — 53. Riker, A. J., Notes on the crowngall situation in England, France and Holland. (Phytopath. Vol. 18. 1928. p. 289—294.) — 54. Riker, A. J., Recent developments in control of graft knots on nursery apple trees. (Journ. Econ. Ent. Vol. 29. 1936. p. 956—960.) — 55. Riker, A. J., and Banfield, W. M., Studies on the development of crown gall, hairy root, and wound overgrowths in treated soil. (Phytopath. Vol. 22. 1932. p. 167—177.) — 56. Riker, A. J., and Hildebrand, E. M., Seasonable development of hairy root, crown gall, and wound overgrowths on apple trees in the nursery. (Phytopath. Vol. 23. 1933. p. 29 und Journ. Agric. Res. Vol. 48. 1934. p. 887—912.) — 57. Riker, A. J., and Keitt, G. W., Second report of progress on studies of crown gall in relation to nursery stock. (Phytopath. Vol. 15. 1925. p. 805—806.) — 58. Riker, A. J., and Keitt, G. W., Studies of crown gall and wound overgrowth on apple nursery stock. (Phytopath. Vol. 16. 1926. p. 765—808.) — 59. Riker, A. J., Hildebrand, E. M., and Keitt, G. W., Seasonable development of crown gall and hairy root. (Phytopath. Vol. 20. 1930. p. 124.) — 60. Riker, A. J., Keitt, G. W., and Banfield, W. M., A progress report on the control of crown gall, hairy root, and other malformations at the unions of grafted apple trees. (Phytopath. Vol. 19. 1929. p. 483—486.) — 61. Riker, A. J., Ivanoff, S. S., and Kilmer, F. B., Antiseptic solutions and antiseptic adhesive tape in relation to control of hairy root, crown gall, and other overgrowths on nursery apple trees. (Phytopath. Vol. 25. 1935. p. 192—207.) — 62. Riker, A. J., Keitt, G. W., Hildebrand, E. M., and Banfield, W. M., Hairy root, crown gall, and other malformations at the unions of piece-root-grafted apple trees and their control. (Journ. Agric. Res. Vol. 48. 1934. p. 913—939.) — 63. Robinson, W., and Walkden, H., A critical study of crowngall. (Ann. of Bot. Vol. 37. 1923. p. 299—324.) — 64. Sanford, G. B., Some factors affecting the pathogenicity of Actinomyces scabies. (Phytopath. Vol. 16. 1926. p. 525—547.) — 65. Schilberszky, K., Beiträge zur Biologie von Pseudomonas tumefaciens. (Ztschr. Pflanzenkrankh. u. -schutz. Bd. 45. 1935. S. 146—159 und Kisérletugyi Kozlémenyck, Budapest. Bd. 38. 1935. S. 207—216.) — 66. Sherbakoff, C. D., Effect of soil treatment with sulfur upon crowngall in nursery apple trees. (Phytopath. Vol. 15. 1925. p. 105—109.) — 67. Sherbakoff, C. D., Plant pathology. (Thirty-ninth Ann. Rept. Tennessee Agric. Exper. Stat. 1926/27. p. 37—41; ref.: Rev. appl. Mycol. Vol. 7. 1928. p. 19.) — 68. Siegler, E. A., Studies on the etiology of apple crown gall. (Journ. Agric. Res. Vol. 37. 1928. p. 301—313.) — 69. Smith, E. F., Brown, N., and Townsend, C. O., Crown gall of plants: its cause and remedy. (U. S. Dept. Agric. Bur. Plant Ind. Bull. Vol. 213. 1911. p. 215.) — 70. Solacolu, Th., et Konstantinesco, D., Tumeurs àcaratères neoplastiques formées sur les plantes par l'action de l'acide — indolylacetique. (Compt. Rend. Sci. Paris. T. 204. 1937. p. 290—292.) — 71. Stapp, C., Der bakterielle Pflanzenkrebs und seine Beziehungen zum tierischen und menschlichen Krebs. (Ber. Dtsch. Bot. Ges. Bd. 45. 1927. S. 480—504.) — 72. Stapp, C., Der Pflanzenkrebs und sein Erreger Pseudomonas tumefaciens. IV. Mitteilung: Eine neue Wirtspflanze (Dahlia variabilis Desf.) mit hochvirulentem Erreger. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 95. 1936. S. 273—283.) — 72a. Stapp, C., Der parasitäre Pflanzenkrebs. In: Adam, C. und

Auler, H., Neuere Ergebnisse auf dem Gebiet der Krebskrankheiten. 1937. S. 168—175.) — 73. Stapp, C., Der Wurzelkropf oder Bakterienkrebs der Obstbäume und seine Bekämpfung. (Flugbl. Nr. 78 d. Biol. Reichsanst. f. Land- u. Forstwirtsch. 4. Aufl. 1938. 7 S.) — 74. Stapp, C., Der Pflanzenkrebs und sein Erreger Pseudomonas tumefaciens. VI. Mitteilung: Asparagus sprengeri Rgl. und Phaseolus vulgaris L. als Wirtspflanzen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 99. 1938. S. 116—123.) — 75. Stapp, C. und Bortels, H., Der Pflanzenkrebs und sein Erreger Pseudomonas tumefaciens. II. Mitteilung: Über den Lebenskreislauf von Pseudomonas tumefaciens. (Ztschr. f. Parasitenkde. Bd. 4. 1931. S. 101—125.) — 76. Suit, R. F., and Eardley, E. A., Secondary tumor formation on herbaceous hosts induced by Pseudomonas tumefaciens Sm. and Towns. (Scient. Agric. Vol. 15. 1935. p. 345—357.) — 77. Thiem, —., Der Wurzelkrebs an den Jungbäumen in der Baumschule. (Erfurt. Führer f. Obst- u. Gartenbau. Bd. 36. 1935. S. 457—458.) — 78. Thiem, —., Der Wurzelkrebs an Obstbäumen. (Ratschl. f. Haus, Garten, Feld. Bd. 10. 1935. S. 145.) — 79. Tims, E. C., An Actinomycete antagonistic to a Pythium root parasite of sugar cane. (Phytopath. Vol. 22. 1932. p. 27.) — 80. Waite, M. B., and Siegler, E. A., A method for the control of crown gall in the apple nursery. (N. S. Dept. Agric. Circ. Vol. 376. 1926. p. 8.; ref.: Rev. appl. Mycol. Vol. 5. 1926. p. 370—371.) — 81. Waksman, S. A., and Joffe, S. J., Microorganisms concerned in the oxidation of sulfur-oxidizing organism isolated from the soil. (Journ. of Bact. Vol. 7. 1922. p. 239—256.) — 82. Wolf, F. A., and Shunk, J. V., Tolerance to acids of certain bacterial plant pathogenes. (Phytopath. Vol. 11. 1921. p. 244—250.) — 83. Woloschinowa, B., Zur Frage der Bekämpfung des Wurzelkropfes der Obstbäume. (Ztschr. f. Garten-, Wein-, Gemüsebau Charkow. Bd. 12. 1927. S. 514—519; ref. [Russisch.]: Bot. Zentralbl. Bd. 12. 1928. S. 373.)

Referate.

Bücher, Institutsberichte usw.

Pönninger, R., Der künstlich belüftete Tropfkörper. (Biologische Vorgänge, Schlammbekämpfung, Leistungssteigerung.) 4°. München (R. Oldenbourg) 1938. 25 S., 20 Abb. 5,60 RM. (Beiheft 18, Reihe 2 zum Gesundheits-Ingenieur.)

An Hand einer Großversuchsanlage wurde die Eignung des künstlich belüfteten Tropfkörpers für die biologische Reinigung des Beuthener Abwassers geprüft. Nach einer Beschreibung des Versuchskörpers und Schilderung der Versuchsdurchführung berichtet Verf. über die Ergebnisse, die er während der 3jährigen Versuchsdauer erzielt hat.

Bei ununterbrochener Belastung des Tropfkörpers trat schnell eine Verschlammung des Körpers ein, an der im wesentlichen Schwefelbakterien (Beggiatoa alba, Thiothrix nivea) beteiligt waren. Neben den Schwefelbakterien fielen durch ihr starkes Auftreten noch zwei Pilze auf, die Verf. zu den Mucorineen zählt. Sphaerotilus natans, der sog. Abwasserpilz, war nicht feststellbar, dagegen trat in geringem Umfang die mit Sphaerotilus natans verwandte, aber scheinverzweigte Sph. dichotomus auf. An Lebewesen höherer Art konnte im Tropfkörper die Schmetterlingsmücke Psychoda, der Wasserspringschwanz (Achorutes viaticus), Regenwürmer und Nematoden beobachtet werden. Als wirksames Mittel zur Bekämpfung der Verschlammung hat sich die Psychoda erwiesen. Die Mücke wurde an den schlammfreien Stellen der Schlacke, dort, wo die Hohlräume mit Luft gefüllt waren, angetroffen, während ihre Larven auf den Schlackenstücken beobachtet wurden. Das Massenauftreten der Psychoda konnte durch Einschaltung von Beschickungspausen erreicht werden. Von wesentlicher Bedeutung für die Entwicklung

der Mücke ist auch die Erhöhung der Temperatur im Tropfkörper, die außer durch Ruhepausen auch durch Belüftung im Gegenstrom zum Wasser erreicht werden konnte. Sogar im Winter ist durch diese Maßnahme ein Massenauftreten der Psychoda zu erzielen und somit eine Entschlammung des Tropfkörpers auch zu dieser Jahreszeit mittels der Schmetterlingsmücke möglich.

Der Wasserspringschwanz wurde im Tropfkörper in stark wechselnden Mengen an den schlammfreien Stellen in den Vertiefungen des Schlackenkorns beobachtet. Regenwürmer wurden vereinzelt in schlammreichen Zonen festgestellt, während Nematoden besonders im Winter an der schlammfreien Unterseite der Schlacke angetroffen wurden.

Die Vorwärmung der Luft übt keinen Einfluß auf die Temperaturverhältnisse im Tropfkörper aus, während die Oxydationswärme des Tropfkörpers eine Temperaturerhöhung des Abwassers um 1—2° C bedingt.

Wenn der Luftdurchgang im Gleichstrom mit dem Wasser erfolgte, konnte die Geruchsbelästigung weitgehendst herabgemindert werden. Bei dieser Luftrichtung konnte im Sommer gleichzeitig der Austritt der Mücken aus dem Tropfkörper verhindert werden. Die Umschließung des Tropfkörpers durch einen Betonmantel erwies sich als hinreichend luftdicht.

Abschließend gibt Verf. auf Grund der erzielten Ergebnisse Richtlinien für den Ausbau der Beuthener Reinigungsanlage.

Bucksteeg (Stade).

Niethammer, A., Die mikroskopischen Bodenpilze, ihr Leben, ihre Verbreitung sowie ihre ökonomische und pathogene Bedeutung. 's-Gravenhage (Verl. W. Junk) 1937. IV + 193 S. Preis 13 Fl.

Verf.n hat den anerkennenswerten Versuch unternommen, unter Heranziehung der einschlägigen Literatur einen Überblick über den derzeitigen Stand unserer Kenntnisse der Bodenmykologie zu geben. Unter dem Begriff „mikroskopische Bodenpilze" faßt Verf.n alle diejenigen Formen zusammen, die sich in den dem Boden „beigemengten organischen Stoffen entwickeln" und auch diejenigen, von denen „nur Konidien, Sporen oder Zygoten im Boden bekannt sind".

Nach kurzem Hinweis auf die Bedeutung der Pilze im Boden sowie auf ungelöste Probleme der Forschung in dieser Richtung wird eine ausführlichere systematische Übersicht der Pilzformen gegeben, wobei eigene mehrjährige Erfahrungen Verwendung finden. Obwohl viele Hunderte von Pilzarten von Verf.n selbst in Kultur genommen wurden, wird die Aufstellung neuer Arten vermieden.

Es folgt dann ein Abschnitt über die Verbreitungsgebiete, in dem Anordnung und Auswertung nach geographisch-klimatischen und bodenkundlichen Grundsätzen vorgenommen wurden und wobei auch die Pflanzenassoziationen im weiteren Sinne (d. h. also mit Einschluß der mikroskopischen Bodenflora) gestreift werden.

Die „Pathologie" ist mit 9 Seiten von Verf.n etwas stiefmütterlich abgetan worden. Die „Physiologie" der Bodenpilze wird hauptsächlich im Abschnitt „Leistungen" abgehandelt. Der Wachstumsregulatoren und der Düngungsfragen wird in kurzen, aber immerhin Sonderkapiteln gedacht. Ein insgesamt 146 Nummern umfassendes Literaturverzeichnis und ein Sachregister beschließen den Band.

Die Unvollständigkeit der vorhandenen Literatur über die Mykologie

des Bodens muß naturgemäß auch in der Darstellung durch Verf.n zum Ausdruck kommen; manche Lücke hier aufgezeigt zu haben, ist ihr Verdienst.

Stapp.

Neuhoff, W., Die Gallertpilze (Tremellineae) und **Knauth, B.** und **Neuhoff, W.,** Die Milchlinge (Lactarii) aus „Die Pilze Mitteleuropas". Bd. 2. Lief. 1—6. Herausgeg. v. d. Dtsch. Ges. f. Pilzkde. d. Dtsch. Bot. Ges. u. d. Dtsch. Naturkundeverein. Leipzig (Verlag Werner Klinkhardt) 1936. Preis 5 RM. je Lieferung.

Lief. 1—4 enthält Abhandlungen von W. Neuhoff über die zur Familie der Tremellaceae gehörende Gattung Ditangium und 13 Arten der Gattung Exidia, Lief. 5 und 6 solche von B. Knauth und W. Neuhoff über 7 Spezies der Gattung Lactarius. Während sich unter den sog. Gallertpilzen eine Anzahl holzzerstörender befindet, gehört zu den Milchlingen oder Reizkern eine Anzahl in Mitteleuropa sehr geschätzter Speisepilze.

Von jeder einzelnen beschriebenen Art sind u. a. die volkstümlichen Namen, die Synonyma und die Literatur, die lateinische Diagnose, die makro- und mikroskopischen sowie die chemischen Merkmale angeführt, dann sind die bisher bekannten Formen genannt. Es folgen Angaben über die Artabgrenzung, die Verwechslungsmöglichkeiten, die Geschichte, das Vorkommen, die Bedeutung und die Fundorte. Außerdem sind jeder Art reichliche, recht instruktive, meist farbige Illustrationen beigegeben.

Das Werk dürfte von allen Mykologen lebhaft begrüßt werden und sich wegen der anschaulichen Bebilderung, die die Bestimmung der Pilze vielfach ohne tiefere mykologische Kenntnisse ermöglicht, für jeden Biologen eignen.

Stapp.

Roemer, Th., Fuchs, W. H. und **Isenbeck, K.,** Die Züchtung resistenter Rassen der Kulturpflanzen. Berlin (Verl. P. Parey) 1938. 427 S., mit 41 Textabb. u. 2 farb. Taf. 12 RM.

Der Standpunkt der Verff. ist unbestritten: „Die wirksamste Bekämpfung einer Pflanzenkrankheit wird stets sein, Rassen zu schaffen und allgemein anzubauen, die erblich begründete Widerstandsfähigkeit gegen die einzelnen Krankheiten aufweisen."

Der jährliche Ernteverlust durch parasitäre Krankheiten und Schädlinge wird allein in Deutschland auf etwa 2 Milliarden RM. geschätzt. Welche Bedeutung in dieser Hinsicht der modernen Züchtungsforschung zukommt, mag hieraus erhellen. Diese erhebliche Erweiterung des Aufgabenkreises der Züchtungsforschung macht die enge Zusammenarbeit von Genetikern, Phytopathologen, Landwirten und Gärtnern notwendig.

Die bisher erzielten Erfolge — die Züchtung krebsfester Kartoffeln, die dazu geführt hat, daß ab 1940 in Deutschland nur noch krebsresistente Sorten angebaut werden dürfen, ist der bedeutsamste Erfolg — ermutigen zu intensiver Weiterarbeit auf diesem Gebiet.

Es ist deshalb das Erscheinen vorliegenden Buches sehr zu begrüßen, in welchem sich Verff. der Mühe unterzogen haben, zunächst an Hand der einschlägigen Literatur und auf Grund reicher eigener Erfahrungen die biologischen Voraussetzungen der Resistenzzüchtung aufzuzeigen, das Wesen der Resistenz und ihre Vererbung zu erläutern, sowie die Bedingungen der Schaffung und Erhaltung resistenter Neuzüchtungen aufzuzeigen, um schließlich für eine größere Reihe züchterisch bereits bearbeiteter Krankheiten, die besondere Methodik und die in Verbindung damit auftauchenden mykologischen, bakteriologischen und genetischen Probleme zu behandeln, wobei als

besonders wertvoll die jeweils angefügten genauen Literaturangaben zu betrachten sind. Stapp.

Dubois, Georges, Monographie des Strigeida (Trematoda). Avec 354 Fig., dans la texte. Mémoire de la Société Neuchateloise des Sciences Naturelles. Tome VI. — Editeurs: Société Neuchateloise des Sciences Naturelles Université, Neuchatel (Suisse), Mai 1938.

Die umfassende Monographie der Strigeidae hat einen allgemeinen und einen speziellen Teil. Als Geschlechtstiere sind diese Würmer Parasiten von Reptilien, Vögeln und Säugern, während die Larven sich in Mollusken, Blutegeln, Fischen, sehr häufig in Amphibien und Reptilien, aber sehr selten in Säugetieren finden. Diese weitverbreitete, parasitäre Familie hat also vom Gesichtspunkt der allgemeinen Parasitologie aus eine besondere Bedeutung. Der allgemeine Teil enthält unter anderen genaue Angaben über die Technik der Messungen, die sehr notwendig sind, um genaue Bestimmungen durchführen zu können. In einer großen Tafel sind ferner die verwandtschaftlichen Beziehungen dieser ganzen Gruppe dargestellt, die heute in verschiedene Superfamilien und Familien aufgeteilt wird. Bei weitem der größte Teil der Monographie betrifft die Beschreibung der einzelnen Arten, zu deren Festlegung ein umfassender, systematischer Schlüssel ausgearbeitet wurde. An den systematischen Teil schließt sich ein ausführliches, alphabetisch geordnetes Verzeichnis der Wirte und der jeweils darin gefundenen Arten der Strigeiden an. Das Schriftenverzeichnis enthält rund 650 Arbeiten. Im ganzen liegt eine Monographie über diese Trematoden vor, die für Jahrzehnte maßgebend sein wird. Ein alphabetisches Index erhöht die Brauchbarkeit dieses Werkes. Die Ausstattung und die Bebilderung sind mustergültig.

Albrecht Hase (Berlin-Dahlem).

Junk, W., Oppenheimer, C. und Weisbach, W., Tabulae Biologicae. Den Haag (Verl. W. Junk) 1937. Bd. 14. 1938. Bd. 15. Preis je Bd. 35 Fl.

Band 14 enthält u. a. Beiträge von O. Rahn über mitogenetische Strahlen, von K. Yamafuji über die Biologie der Seide, von K. Myrbäck über Co-Zymase, von H. L. A. Tarr über die Brutkrankheiten der Biene, von F. Schlenk über Co-Carboxylase, von C. Heidermanns über Exkretion und Exkretstoffwechsel der Wirbellosen und von W. Roman über deskriptive und physikalische Chemie der Eiweißkörper, Band 15: Beiträge von R. Oppenheimer und von F. Dessau über Sexualhormone, von A. Purr über Tumoren bei Mensch, Tier und Pflanze, sowie von N. N. Iwanoff und M. J. Knjaginitschev über die Biochemie der Getreidearten. Stapp.

Mikrobiologie der Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel.

Sherman, J. M., and Niven, C. F., The Hemolytic Streptococci of milk. (Journ. of Infect. Dis. Vol. 62. 1938. p. 190—201.)

68 Rohmilchproben und 245 pasteurisierte Milchproben wurden auf das Vorhandensein von „breitzonigen" hämolytischen Streptokokken geprüft. Ergebnis: Nur in 8,5% der pasteurisierten Milchproben kamen hämolytische Streptokokken vor, während mehr als das Doppelte (18%) in den Rohmilchproben gefunden wurde. Bei der serologischen und physiologischen Untersuchung der erhaltenen Reinkulturen konnten folgende 6 Gruppen bzw. Arten unterschieden werden. Strept. mastitidis (Lancefields Gruppe B), tierische Pyogenes-Streptokokken (Lancefields Gruppe C),

Strept. durans (Lancefields Gruppe D), Strept. zymogenes (Lancefields Gruppe D) und 2 andere Typen, die serologisch und physiologisch von allen anderen bis jetzt genauer beschriebenen Streptokokken abweichen. Während in Rohmilch Strept. mastitidis und tierische Pyogenes-Streptokokken vorherrschten, waren die in pasteurisierter Milch am häufigsten gefundenen Arten Strept. durans und Strept. zymogenes.

K. J. Demeter (München-Weihenstephan).

Häni, J., Versuche über die unter dem Einfluß der Bakterienentwicklung in der Milch auftretenden Veränderungen, ein Beitrag zur Abklärung des Begriffes der „erstickten" Milch. (Mitt. Lebensmittelunters. Bd. 28. 1937. S. 315—357; Bd. 29. 1938. S. 57—107.)

Die „erstickte" Milch spielt eine nicht unbedeutende Rolle in der Milchwirtschaft. Sie ist als Konsummilch wegen ihres widerlichen Geruchs und ihrer kurzen Haltbarkeit verpönt. Auch beim Käsen wirkt sie sich ungünstig aus. Unsere noch dürftigen wissenschaftlichen Kenntnisse über das Wesen der erstickten Milch veranlaßten den Verf., die Bedingungen ihres Auftretens eingehend zu studieren. Er unterscheidet bei der Milch einheitliche und Mischgerüche. Die von ihm bei erstickter Milch festgestellten Gerüche waren vorwiegend unrein säuerliche Mischgerüche. In der Regel war damit auch eine kleine Steigerung des Säuregrades verbunden. Die weiteren Untersuchungen ergaben, daß nicht die fehlende Belüftung der Milch das Auftreten von erstickter Milch verursacht, sondern das längere Stehenbleiben von Milch bei höherer Temperatur, bei welcher Gelegenheit die Fetttröpfchen beim Aufrahmen die Bakterien in die Rahmschicht transportieren. Da sie sich hierin kräftig entwickeln, setzt auch die Säuerung in der Rahmschicht zuerst ein und schreitet dann nach unten fort. Auf der Rahmoberfläche konnte Verf. auch die ersten unangenehmen vorwiegend säuerlich-adstringierenden Gerüche wahrnehmen, die durchwegs auf die starke Entwicklung des Strept. lactis in Verbindung mit aeroben, meist fettzersetzenden Bakterien (alkalibildende Kurzstäbchen, Bact. fluorescens und Verwandtschaft) zurückzuführen waren. Es gelang auch, in Milch durch Beimpfung mit diesen Keimen künstlich „erstickte" Milch hervorzurufen.

K. J. Demeter (München-Weihenstephan).

Kiermeier, F., Butterlagerung bei tiefen Temperaturen. (Molkerei-Zeitg. Hildesheim. Bd. 52. 1938. S. 818—820.)

Eine größere Zahl von Butterproben zu je 2 kg und Fässer zu je 50 kg aus drei verschiedenen Betrieben wurden bei — 5°, — 8,5°, — 15° und — 20° eingelagert und in bestimmten Zeitabschnitten untersucht. Die Versuche haben gezeigt, daß nur hochwertige Butter durch Lagerung bei tiefen Temperaturen lange lagerfähig bleibt. Die unter anderem durchgeführten bakteriologischen Untersuchungen haben gezeigt, daß die Mikroorganismen, auch wenn die Butter bei sehr tiefen Temperaturen gelagert wurde, die Lagerfähigkeit mindestens indirekt beeinflussen konnten, insofern, als selbst bei einem Rückgang der Keimzahl während der Lagerung die gebildeten Fermente wirksam bleiben. Die von Dibbern, Schätzel und Dirking vorgeschlagene Haltbarkeitsprobe, wonach aus den Veränderungen der Butter bei einer 3 Tage langen Bebrütung bei 37° auf die Haltbarkeit zu schließen wäre, ließ keinen eindeutigen Schluß auf die tatsächliche Haltbarkeit im Kühlhaus zu, da bei den Ergebnissen dieser Haltbarkeits-

probe eine sehr starke Streuung festgestellt werden konnte. Nur bei bester Markenbutter ließ sich durch die Lagerung bei wenigstens — 15° eine merkliche Verlängerung der Lagerfähigkeit erzielen. Eine verläßliche Schnellprobe zur Ermittlung der Lagerfähigkeit ist derzeit noch nicht vorhanden.
A. Janoschek (Weihenstephan).

Mohr, W. und **Ritterhoff,** Dauerbutter aus Süßrahm oder Sauerrahm? (Molkerei-Zeitg. Hildesheim. Bd. 52. 1938. S. 808—814.)

Butter aus Sauerrahm, neutralisiertem Rahm und Süßrahm unter möglichst gleichen Bedingungen hergestellt und denselben Lagerungsverhältnissen unterworfen, wurde vergleichend untersucht. Die Versuche haben gezeigt, daß Sauerrahmbutter in besserer oder mindestens in derselben Qualität selbst nach 5—7 Monate langer Lagerung aus dem Kühlhaus herausgehen kann, wie Süßrahmbutter. Die noch nachzuprüfenden Versuche haben allerdings auch gezeigt, daß Süßrahmbutter, vorausgesetzt daß der Rahm nicht überneutralisiert war, bezüglich der Erhaltung der Qualität nicht so empfindlich schien wie Sauerrahmbutter. Die bakteriologische Untersuchung konnte im allgemeinen bestätigen, daß sowohl in Süßrahmbutter als auch in Sauerrahmbutter die Keimzahl durch die Lagerung bei tiefen Temperaturen stark abnimmt und zwar von 720 000, 1,1 Millionen und 5,1 Millionen vor der Lagerung auf 800, 1100 und 41 000 nach der Lagerung. Lagerungstemperaturen zwischen — 5° und — 20° hatten keinen wesentlich verschiedenen Einfluß auf die Keimabnahme. Die bakteriologische Beschaffenheit zur Zeit der Einlagerung ließ keinen eindeutigen Schluß auf die Lagerfähigkeit bei tiefen Temperaturen zu. Aus dem bakteriologischen Bild nach der Auslagerung war nicht auf die derzeitige Qualität und die Haltbarkeit zu schließen. Peinlichste Sauberkeit und eine bakteriologisch einwandfreie Arbeitsweise muß für die Herstellung von Dauerbutter auch dann oberster Grundsatz bleiben, wenn die Butter bei sehr tiefen Temperaturen gelagert werden soll.
A. Janoschek (Weihenstephan).

Nielsen, N. und **Hartelius, V.,** Die Stickstoff-Ausscheidung der Hefe bei tiefer Temperatur. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 55. 1938. S. 149—151.)

In eine mineralische Zuckerlösung, die als einzige Stickstoffquelle Ammonsulfat und als Wuchsstoff etwas Bierwürze enthielt, wurden je Liter 1 g Hefetrockensubstanz eingeimpft und bei einer Temperatur von 8° C gehalten. Man fand, wie bei früheren Versuchen mit geringerer Hefeaussaat und höherer Gärtemperatur, daß die Hefe während ihres Wachstums etwa ein Drittel des aufgenommenen Stickstoffs wieder ausschied. Diese erheblichen Mengen müssen natürlich für die Zusammensetzung der Nährlösung von Bedeutung sein, jedoch können die mit synthetischen Nährlösungen gewonnenen Resultate nicht ohne weiteres auf Bierwürze übertragen werden, in der vor allem die größere Menge vorhandener Wuchsstoffe die Stickstoff-Ausscheidung beeinflussen dürfte.
Heuß (Berlin).

De Fontenay, F. J. und **Lund, A.,** Beeinflussen die Heferassen die Schaumhaltigkeit des Bieres? (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 55. 1938. S. 106—109.)

Würze gleicher Zusammensetzung, die mit verschiedenen Heferassen vergoren wurde, wies nach der Methode von Blom und Prip in der Schaumzahl Unterschiede bis zu 44 Einheiten auf; trotzdem kann man den verschiedenen

Heferassen kaum eine entscheidende Bedeutung für die verschiedene Schaumhaltigkeit beimessen. Bei der Untersuchung einer Reihe von Faktoren — Viskosität und Azidität des Bieres, dessen Gehalt an Zucker, Stickstoff, Alkohol und Gehalt der Hefe an Hefegummi — wurden durchschnittlich bei Würzen, die mit verschiedenen Heferassen vergoren war, nur recht kleine Unterschiede festgestellt, und es konnte nicht mit Sicherheit ein Zusammenhang zwischen diesen und den verschiedenen Schaumzahlen konstatiert werden. Nachgärung von Bier mit Porter-Nachgärungshefe scheint bisweilen eine Verbesserung der Schaumhaltigkeit zu bewirken. Zusatz von Bier, das mit einer Staubhefe (Nachgärungshefe) vergoren ist, zu Bier, das mit gewöhnlicher untergäriger Hefe vergoren ist, und darauffolgende Nachgärung scheint ebenfalls eine Verbesserung der Schaumhaltigkeit bewirken zu können.

Heuß (Berlin).

Kleber, W., Über Herstellung und Eigenschaften der belgischen obergärigen Biere. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 55. 1938. S. 125—128.)

Die belgischen obergärigen Biere unterscheiden sich von den deutschen und englischen grundsätzlich durch die Art der verwendeten Rohstoffe, durch die Eigenart der Gärung und durch die lokale Geschmacksrichtung. Am bekanntesten sind die Brüsseler Spezialbiere Lambic, Mars und Faro. Neben Gerstenmalz, das aus sechszeiliger Wintergerste hergestellt wird, findet auch ungemälzter Weizen im Verhältnis 6 : 4 Verwendung. Lambic hat eine Stammwürze von über 15%, Mars eine solche von 10%. Gebraut wird nur in den kalten Monaten des Jahres. Auf dem Kühlschiff läßt man die Würze, die noch unverzuckerte Stärke enthält, bis auf 13° C abkühlen, dort beginnt bereits eine Angärung durch Luftorganismen. Darauf überläßt man die Würze in unlackierten Holzbottichen der Selbstgärung durch die im Holz enthaltenen Organismen. Nach etwa 14 Tagen wird die angegorene Würze auf Versandfässer gefüllt und 1½—2 Jahre bei 15° C bis zur Reife gelagert. An der Gärung sind 50—60 Organismen beteiligt, die den Gattungen Willia, Mycoderma, Torula, Sacch. ellipsoideus, Sacch. cerevisiae Typ Frohberg, Bretanomyces bruxellensis u. a. angehören. Daneben finden sich auch reichlich Essig- und Milchsäurebakterien. Bei den Löwener Bieren, Löwener Weißbier und Peterman, verwendet man neben Gerstenmalz und rohem Weizen auch rohen Hafer und Mais. Die Würzen werden mit einer obergärigen Spezialhefe im Bottich angestellt, die Biere sind schnell konsumreif und haben einen sehr niedrigen Ausstoßvergärungsgrad und geringen Alkoholgehalt. Die Brüsseler Biere sind dunkel, rauh und herb, die Löwener Biere sind hell, mild und süß. Orge ist ein ursprünglich aus Antwerpen stammendes Bier aus Gerstenmalz und Rohfrucht, etwas länger und höher vergoren als die Löwener Biere. Ihm ähnlich ist das Uitzet, das besonders in Lüttich und Gent gebraut wird. Dem Löwener Weißbier ähnlich ist auch das bière blanche de Hougaarde aus Gerstenmalz, rohem Weizen und Hafer, das durch wilde Selbstgärung bereitet und noch gärend ausgeschenkt wird. Bei dem Lütticher Bier, das aus Gerstenmalz und Reis oder Mais bereitet wird, erfolgt die Gärung mit obergäriger Kulturhefe. Das gleiche gilt für das in Diest bereitete Bier, das schon in 2—3 Tagen vergoren ist.

Heuß (Berlin).

Henglein, F. A. und Salm, L., Über die Erhöhung des Eiweißgehaltes von Grünfutter. (Ztschr. f. angew. Chemie. Bd. 51. 1938. S. 186.)

In Einmachgläser von 2 l Inhalt wurden Runkelrübenblätter oder Gras eingestampft und mit einem Gemisch von Phosphor- und Salzsäure siliert. Gleichzeitig wurden zu den einzelnen Proben verschiedene Mengen Diammonphosphat zugegeben. Die Versuchsbedingungen lehnten sich eng an die praktischen Verhältnisse der Silierung an. Man konnte durch den Zusatz von Diammonphosphat keine Erhöhung des Eiweißgehaltes im Grünfutter erzielen, größere Mengen des Salzes bewirkten im Gegenteil verminderte Säuerung und damit einen Abbau von Eiweiß zu Ammonsalzen. Eine er-

hebliche Steigerung des Eiweißgehaltes von siliertem Grünfutter gelang in orientierenden Versuchen mit Hefe und Luft unter Zugabe von Stickstoffsalzen. Heuß (Berlin).

Schädigungen der Pflanzen durch Pilze, Bakterien und filtrierbare Vira.

Fellows, H., Interrelation of take-all lesions on the crowns, culms, and roots of wheat plants. (Phytop. Vol. 28. 1938. p. 191—195, 2 figs.)

Bei den Gewächshausversuchen, die sich über 5 Jahre erstreckten, zeigte sich folgendes: Wenn nur ein Organ der Weizenpflanze von Ophiobolus graminis befallen war, waren es meistens die Wurzeln. Die Infektion der Wurzeln hatte vielfach die Infektion des Halmgrundes zur Folge. Ein stärkerer Befall des Halmgrundes war von einer stärkeren Infektion der Wurzeln und des Halmes begleitet. Ferner wirkte er sich in einem größeren Prozentsatz an abgestorbenen Pflanzen aus. Bei allen Pflanzen, die durch Ophiobolus graminis abgetötet waren und bei denen Sporenbildung beobachtet wurde, waren Wurzeln, Halmgrund und Halm befallen.
Winkelmann (Münster i. W.).

Groves, A. B., The relation of concentration of fungicides and bud development to control of peach leaf curl. (Phytop. Vol. 28. 1938. p. 170—179, 1 fig.)

Bei den Versuchen zur Bekämpfung der Kräuselkrankheit des Pfirsichs (Exoascus deformans) zeigte sich, daß diese Krankheit mit schwächeren Konzentrationen der Bekämpfungsmittel möglich ist, als bisher üblich war. Schwefelkalkbrühe 1 : 50, Kupferkalkbrühe 2 : 4 : 100 und benetzbarer Schwefel etwa 1,8% (16 pounds auf 100 Gallonen) erwiesen sich als ausreichend wirksam. Die besten Erfolge wurden bei Spritzungen erzielt, die vorgenommen wurden, wenn die Blätter sich schon etwas entfaltet hatten.
Winkelmann (Münster i. W.).

Kononenko, E. W., Zur Frage über den Erreger der Welkekrankheit bei der Baumwolle. (Mikrobiologie. Bd. 6. Folge 6. 1937. S. 699—715.) [Russisch.]

In den untersuchten Bodenproben konnte Verf. eine Gruppe von Mikroorganismen feststellen, die den das Welken der Baumwolle verursachenden Pilz Verticillium dahliae zerstört. Diese Mikroorganismen-Antagonisten gehören der Art Polyangium und Myxococcus an. Die Zerstörung des Pilzes beginnt meistens am 5. Tage nach der Einbringung der Antagonisten in den Boden und endet am 15.—20. Tage; eine Ausnahme davon machen nur Ssolontschackböden, wo der Prozeß sich bis über 2 Monate verzögert. M. Gordienko (Berlin).

Tharps, W. H., A sand-nutrient infection technique for the study of Fusarium wilt of cotton. (Phytop. Vol. 28. 1938. p. 206—209, 2 figs.)

Bei der vom Verf. beschriebenen Methode wird Fusarium vasinfectum zunächst auf Richards Lösung kultiviert. Das Material wird dann mit sterilisiertem Sand gemischt und in diesen die Baumwollsamen gelegt. Die Nährlösungen werden dem Sand zugesetzt.
Winkelmann (Münster i. W.).

Padwick, G. W., Complex fungal rotting of pea seeds. (Ann. Appl. Biol. Vol. 25. 1938. p. 100—114.)

Von den Kotyledonen und Stengeln kranker Erbsen wurden die pilz-

lichen Erreger isoliert, die für die lückigen Bestände von Garten- und Felderbsen verantwortlich zu machen sind. Neben zahlreichen nicht pathogenen Arten wurden die folgenden gefunden, die für Erbsenkotyledonen stark pathogen sind: Botrytis cinerea, Fusarium avenaceum, Fus. culmorum, Fus. graminearum, Fus. spec., Helminthosporium sativum, Ophiobolus heterostrophus und Sclerotinia spec. Es wird angenommen, daß die durch diese Pilze verursachten großen Verluste in den Erbsenbeständen bedeutungsvoller sind als die durch Ascochyta und Mycosphaerella hervorgerufenen Erbsenkrankheiten. Bortels (Berlin-Dahlem).

Watkins, G. M., Histology of Phymatotrichum root rot of field-grown cotton. (Phytop. Vol. 28. 1938. p. 195—202, 1 fig.)

Verf. untersuchte die Einzelheiten beim Eindringen von Phymatotrichum omnivorum in die Wurzel der Baumwolle an Material aus erkrankten Feldbeständen und beobachtete das Verhalten des Pilzes innerhalb des Gewebes. Winkelmann (Münster i. W.).

Campbell, Marie E., A disease of the viola caused by Ramularia deflectens. (Ann. Appl. Biol. Vol. 25. 1938. p. 115—121.)

Von einer kranken Veilchensorte wurde der Pilz Ramularia deflectens isoliert, der auf den Blättern der Pflanze sklerotiumartige Körper bildet, die sich als unvollständig entwickelte Pykniden erwiesen. Perithezien wurden weder in Kultur noch auf erkrankten Pflanzen beobachtet. Infektionsversuche verliefen positiv. Bortels (Berlin-Dahlem).

Plakidas, A. G., The mode of action of Bordeaux on Mycosphaerella fragariae. (Phytop. Vol. 28. 1938. p. 307—329, 2 figs.)

Kupferkalkbrühe beeinträchtigte das Myzel von Mycosphaerella fragariae nicht, wenn es sich bereits im Innern des Blattes befand. Die Sporenbildung auf der Blattoberfläche wurde durch Spritzung wesentlich vermindert. Die Konidien erwiesen sich als äußerst empfindlich gegen Kupferkalkbrühe. Eine Keimung trat nicht ein, wenn die Sporen in Kontakt mit angetrockneter Kupferkalkbrühe auf Glasplatten oder mit Brühe, die 50 Tage auf Blättern im Freien war, gebracht wurden. Die Sporen waren nach 24 Tagen tot. Die Sporen keimten auch nicht in der überstehenden klaren Flüssigkeit von frisch bereiteter Brühe. Wurde diese Flüssigkeit auf Glasscheiben eingetrocknet, so war die Keimung der aufgebrachten Sporen anormal. Kalk erwies sich als ungiftig. Wenn die Konidien durch Filtrierpapier von der Kupferkalkbrühe getrennt wurden, wurden sie, wenn sie mindestens 30 Min. in der Flüssigkeit blieben, getötet oder stark geschädigt. Lösungen von Kupfersulfat 1 : 250 000, von Kupferchlorid 1 : 500 000 und Kupferazetat 1 : 400 000 töteten die nichtgekeimten Sporen ab. Bei schwächeren Lösungen waren die Keimungen anormal.

Winkelmann (Münster i. W.).

Jenkins, A. E., and McWhorter, F. P., Additional records of rose anthracnose in the United States. (Phytop. Vol. 28. 1938. p. 360—363, 1 fig.)

Verff. bringen Angaben über die Verbreitung und die Zeit der Fest-

stellung von Sphaceloma rosarum in den Staaten Nord-Karolina, Oregon, Michigan und Tennessee. Winkelmann (Münster i. W.).

Crandall, B. S., and Hartley, C., Phytophthora cactorum associated with seedling diseases in forest nurseries. (Phytop. Vol. 28. 1938. p. 358—360.)

Infektionen mit Phytophthora cactorum an Nyssa, Colutea, Caragana und Pinus nigra sowie mit Phytophthora pini von Pinus resinosa an dieser Pflanze ergaben nur Erkrankungen nach der Impfung mit P. pini.

Winkelmann (Münster i. W.).

Bordukowa, M. W., Über die Bestimmung der Widerstandsfähigkeit der Kartoffeln gegen die Phytophtora. (Obst- u. Gemüsebauwirtschaft. Bd. 9. 1937. S. 29—32.) [Russisch.]

Die beste Methode zur Bekämpfung der Phytophtora bei Kartoffeln ist die Züchtung der gegen diese Krankheit widerstandsfähigen Sorten. Die Bestimmung der Widerstandsfähigkeit kann durch die künstliche Infektion erfolgen. Dabei erwies sich am besten die sog. Kontaktmethode, die zur Erkrankung auch sehr widerstandsfähiger Formen (Solanum demissum f. recurvoacuminatum, f. xitlense, f. tlaxpehualcoense, Sorte Nr. 8670 u. a.) führen konnte. Das nähere Studium des Erkrankungsprozesses zeigte, daß die von Phytophtora befallenen Gewebe widerstandsfähiger Sorten, dank ihrer hohen Empfindlichkeit dem Pilz gegenüber, rasch abzusterben beginnen, wodurch für den Pilz sehr ungünstige Verhältnisse geschaffen werden, so daß auch dieser bald abstirbt; die gegen Phytophtora empfindlichen Sorten reagieren dagegen auf die Entwicklung des Pilzes in ihrem Gewebe anfänglich gar nicht, ihre Zellen sterben erst später und infolge der durch den Pilz hervorgerufenen Erschöpfung ab, während sie mit Pilzmycelien dicht durchsponnen werden und während diese schon in tiefere Gewebeschichten durchgedrungen sind.

M. Gordienko (Berlin).

Hampp, H., Erprobung von Hopfen-Schädlingsbekämpfungsmitteln. (Deutsche Brauwirtschaft. Bd. 46. 1938. S. 216—217.)

Der Bericht befaßt sich mit der im Jahr 1937 durchgeführten Prüfung von Peronospora-Bekämpfungsmitteln an Hallertauer Hopfen, der bekanntlich sehr anfällig gegen Peronospora ist. Die Witterungsverhältnisse waren für die Entwicklung der Peronosporen (Blattbefall) günstig. Neben Kupferkalk Wacker als Vergleichsmittel, dessen pilztötende Wirkung und Regenbeständigkeit sich wieder bewährte, wurden geprüft Mittel A = Kupfersparmittel, B = Kupferkalk Borchers, C, D, E = kupferfreie Mittel und F = Ob 72.

Mittel A: Pilztötende Wirkung und Wetterbeständigkeit sind gut. In 1 proz. Lösung bewirkt es aber wie die gewöhnliche Kupfervitriollösung Verbrennungen an den Pflanzen, besonders ihren Dolden. Die Herstellung der Spritzbrühe ist wegen der starken Schaumbildung umständlich.

Mittel B: Pilztötende Wirkung gut; Witterungsbeständigkeit zurückbleibend, Gesamtwirkung mittel bis gut.

Mittel C und D: 1 proz., E: $^1/_4$ proz. gute, aber nur kurz anhaltende pilztötende Wirkung, Wetterbeständigkeit nicht ausreichend, daher nicht empfehlenswert.

Mittel E 1 proz.: Pilztötende Wirkung gut, die Blätter färbten sich nach der Spritzung etwas bräunlich. Die endgültige Beurteilung des Mittels ist noch nicht abgeschlossen. Heuß (Berlin).

Colhoun, J., Fungi causing rots of apple fruits in storage in northern Ireland. (Ann. Appl. Biol. Vol. 25. 1938. p. 88—99.)

Bei der Untersuchung von Faulstellen an gelagerten Äpfeln Nordirlands wurden über 40 verschiedene Pilze isoliert, von denen sich 16 wohl definierte Arten für eine bestimmte, dort häufig angebaute Apfelsorte als pathogen erwiesen. Fäulniserregend waren außerdem noch mehrere andere Pilze, die nicht bestimmt werden konnten, weil sie auf den benutzten Nährböden und auf Äpfeln steril blieben. Die Faulstellen befanden sich größtenteils entweder am Stiel oder an der Blüte oder an Wundstellen. Verf. fordert eine pfleglichere Behandlung der Früchte sowie eine Reihe hygienischer Maßnahmen im Obstgarten. Bortels (Berlin-Dahlem).

Winston, J. R., Algal fruit spot of orange. (Phytop. Vol. 28. 1938. p. 283—286, 2 figs.)

Verf. berichtet über eine Fleckenkrankheit an den Früchten von Citrus sinensis Osbeck, die durch eine Alge Cephaleuros (vivescens) mycoidea Karst. verursacht wird.

Winkelmann (Münster i. W.).

Ivanoff, S. S., Riker, A. J., and **Dettwiler, H. A.,** Studies on cultural characteristics, physiology and pathogenicity of strain types of Phytomonas Stewarti. (Journ. Bact. Vol. 35. 1938. p. 235—253.)

Die zeitlich und örtlich ungleich schwere Erkrankung des Mais und anderer Gramineen, die durch Phytomonas Stewarti hervorgerufen wird, veranlaßte die Verff., nach Biotypen dieses Erregers zu fahnden. Zu dem Zwecke wurde eine Reihe von Einzellkulturen auf ihre morphologischen und physiologischen einschließlich der pathogenen Eigenschaften untersucht, wobei sich sehr deutliche Unterschiede ergaben, die zur Aufstellung dreier Typen des Bakteriums führten. Typ A ist in seinen kulturellen, biochemischen und morphologischen Eigenschaften verhältnismäßig konstant und hoch pathogen, Typ B dagegen in allen diesen Eigenschaften sehr inkonstant und Typ C wiederum sehr konstant in allen Eigenschaften, aber von nur geringer Pathogenität. B scheint sich bei längerer Kultur leicht umzuwandeln in C. Gewisse Anzeichen deuten darauf hin, daß in einigen Gegenden zu gewissen Jahreszeiten bestimmte Kulturtypen vorherrschen. Die Pathogenität der einzelnen Kulturen war immer um so größer, je mehr Schleim sie bildeten. Bortels (Berlin-Dahlem).

Azevedo, N., Observações sobre uma doença de virus em tomateiro. (Rodriguesia. Bd. 2. 1936. S. 209—212.)

Auf dem Versuchsfeld des Phytopathologischen Institutes wurde an der Tomatensorte „Grande liso" eine Viruskrankheit beobachtet. Die Blätter waren vom Rande her eingerollt, die Blattnerven violett verfärbt. Daneben wurden Kräuselerscheinungen beobachtet, die entweder allein oder zusammen mit der Blattrollung an den ausgewachsenen Blättern auftraten und ebenfalls eine violette Farbtönung erkennen ließen. Die Stengel sind schwach

bronzefarben. Auf den Früchten treten Flecke der verschiedensten Form auf. Neben solchen unregelmäßiger Gestalt sind es in der überwiegenden Anzahl der Fälle ringförmige Bildungen, die dem ringspot der amerikanischen Autoren entsprechen und deren Zahl auf der Einzelfrucht sehr beträchtlich sein kann. Häufig ist auch die Bildung eines einzelnen Ringes, der dann die Tomate in ihrem ganzen Umfange umspannt. Anhaltspunkte für eine Übertragung der Krankheit durch Insekten konnten nicht gewonnen werden. Beim Vergleich der beschriebenen Krankheitssymptome mit denen anderer Viruskrankheiten der Tomate ergibt sich zwar eine gewisse Ähnlichkeit, aber keine Übereinstimmung. An diese Tatsache wird die Vermutung geknüpft, daß die vorliegende Krankheitserscheinung sowie eine Reihe anderer, in der Literatur bereits beschriebener Viruskrankheiten der Tomate der gleichen „Virusgruppe" angehören, wobei die Ausbildung der einzelnen Symptome lediglich in Abhängigkeit von den ökologischen Bedingungen stehen soll.

M. Klinkowski (Berlin-Dahlem).

Tierische Schädlinge.

Saint-Charles, R. de, Etudes et résultats de la lutte chimique contre les énnemis de la vigne en Beaujolais. (Révue de viticulture. T. 88. 1938. p. 416—422.)

Ein Praktiker, mit größerem Rebbesitz im Beaujolais in Frankreich, macht hier Vorschläge zur Rebschädlingsbekämpfung, nachdem er in jahrelangen Versuchen für sich die Bekämpfungsfrage gelöst hat und darum bei den Winzern viel Beachtung findet. Er behandelt die Reben mit einer Kupferkalk-Bleiarsenatbrühe, der er je hl 150—200 g eines sulfonierten Terpenalkohols zusetzt, um die Schleimigkeit und Haftfähigkeit der Brühe besser zu gestalten. Der Erfolg seiner Schädlingsbekämpfung liegt aber lediglich darin, daß die Nachbarn offenbar Arsen- oder Bleiarsenatzusatz zur Kupferbrühe noch nicht versucht haben, oder ohne Haftmittel spritzen, denn was uns der Verf. als sein Bekämpfungsverfahren schildert, ist auch in Frankreich längst bekannt. Er liest aber anscheinend keine Literatur, da er diese für den Winzer für unnötig hält. Vom Schädlingsbekämpfungsdienst hält Verf. ebenfalls nichts. Nach ihm ist es weder nötig, noch unerläßlich, einen Mottenflug-Beobachtungsdienst einzurichten. Es genügt, wenn der Winzer beim täglichen Gang durch die Reben die Stärke des Mottenflugs beobachtet und darnach seine Bekämpfung handhabt. Auch die Zahl der Bekämpfungen muß der Winzer durch Beobachtungen in den Reben selbst feststellen können. Es wäre erfreulich, wenn jeder Winzer schon so weit wäre!

K. Müller (Freiburg i. Br.).

Aufhammer, G., Wanzenstichige Weizen- und Gerstenkörner. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 55. 1938. S. 100—103.)

Qualitätsuntersuchungen an Weizen führten zur Erkennung bisher unbekannter Schädlinge in Gestalt verschiedener Wanzenarten, die ausschließlich im Freien auf Wiese und Acker vorkommen. Diese Wanzen, die gegendweise verschieden stark auftreten, befallen auch Gerstenpflanzen. Es handelt sich hauptsächlich um die Breitbauchwanze (Eurygaster maura), den Spitzling (Aelia acuminata), die grüne Stinkwanze (Palomena prasina), die Beerenwanze (Dolycoris baccarum) und die Fruchtwanze (Carpocoris pudicus). Die unter dürrem Laub und Streu überwinterten Wanzen befallen im Frühjahr Gräser, Kräuter und die Saatfelder von Roggen, Weizen, Gerste und Hafer und saugen an den jungen saftigen Trieben, die ihr Wachstum daraufhin verlangsamen oder ganz absterben. Nach Erscheinen der ersten Ähren werden mit zunehmender Verholzung von Blatt und Halm die mit einem milchartigen Eiweiß-Stärkebrei sich füllenden Getreidekörner bevorzugt. Der Wanzenstich ist äußerlich am Korn nur schwierig wahrzunehmen, er verrät sich vielfach durch ein nadel-

feines Pünktchen. Nach Weichen wanzenstichiger Gerstenkörner und Abschälen der Spelze zeigt sich auf dem nackten Korn rings um den Einstich eine braune Verfärbung. Durch den Wanzenspeichel werden Stoffe, jedenfalls proteolytische Enzyme, im Korn ausgeschieden, die bei Weizen überraschend große Veränderungen in der kolloiden Struktur von Eiweißbestandteilen und auch in der technischen Verarbeitung des Mehles zur Folge haben. Bei Gerste hat die Wanzenstichigkeit Störungen der Keimfähigkeit zur Folge.
Heuß (Berlin).

Zabel, E., Bekämpfung des Kornkäfers. (Tageszeitg. f. Brauerei. Bd. 36. 1938. S. 294—295.)

Verf. berichtet über gute Erfahrungen bei der Kornkäferbekämpfung durch Ausspritzen der Lagerräume mit 4—6 proz. Montaninlösung. (Vgl. das folgende Referat!)
Heuß (Berlin).

Göpp, K., Kornkäferbekämpfung? (Tageszeitg. f. Brauerei. Bd. 36. 1938. S. 326.)

Verf. konnte die Angaben Zabels über die Brauchbarkeit von Montanin zur Kornkäferbekämpfung nicht bestätigen und warnt deshalb vor der Anwendung dieses Mittels.
Heuß (Berlin).

Göpp, K., Versuche mit dem „Duracet-Kornkäfer-Bekämpfungsmittel". (Deutsche Landw. Presse. Jahrg. 64. 1937. S. 401—402.)

Viele zur Kornkäferbekämpfung benutzte Spritzmittel haben einen Eigengeruch, der sich dem eingelagerten Getreide leicht mitteilt und bei Braugerste und Malz zu einer Abwertung und damit zu einer Beeinträchtigung des Verkaufswertes führt. Das „Duracet-Kornkäfer-Bekämpfungsmittel" hat sich jedoch bei vorschriftsmäßiger Arbeitsweise und Einhaltung der notwendigen Lüftungszeiten (bei offenen Böden 4—5, bei geschlossenen Speichern 8 Tage) bewährt. Geruchsbeeinträchtigungen von eingelagerter Gerste verschwänden im Verlauf des Weich- und Keimprozesses. Aus geruchsbeeinträchtigtem Malz hergestellter Schrot zeigte dagegen noch einen Beigeruch, der auch noch nach dem Einmaischen bei 45° C festzustellen war. Einstündiges Stehenlassen der Maische bei 70° C und anschließendes Läutern genügten jedoch, um die letzten Reste eines Beigeruchs verschwinden zu lassen. Würze und Treber zeigten keine Geruchsbeeinträchtigungen.
Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Ext, W., Detal gegen Ohrwürmer. (Anzeiger f. Schädlingskde. Jahrg. 13. H. 12. S. 145—147.)

Auf Grund gut verlaufener Freilandversuche wird Detal zur Bekämpfung von Ohrwürmern empfohlen. Die von dem Detal getroffenen Tiere sterben binnen 1—2 Std. Vorsichtiger Gebrauch des Detal und Verwendung nur außerhalb von Wohngebäuden wird nahegelegt.
Göß wald (Berlin-Dahlem).

Abgeschlossen am 11. Oktober 1938.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 99. No. 14/17.
Ausgegeben am 1. Dezember 1938.

Nachdruck verboten.

Studies on the Bacterial-Plant Groups of Cowpea and Cicer.

V. Symbiotic Fixation of Nitrogen.

By **M. S. Raju.**
Agricultural Research Institute, Coimbatore (India).

With 4 figures in the text.

In the earlier part (14) observations were confined mostly to the nodule formation alone. These observations give practically no idea of the fixation of nitrogen which is after all the main object with which the legumes are generally cultivated. Experiments were, therefore, started under the controlled conditions of the green-house during different seasons of the year under the natural variations of the solar radiation prevalent at Madison, Wisconsin, to test the influence of the following three factors on the symbiotic fixation of nitrogen by four premier pulse crops grown extensively throughout India, e. g. Red gram (Cajanus indicus, Spreng.), Green gram (Phaseolus radiatus Linn.), Horse gram (Dolichos biflorus Linn.) and Bengal gram (Cicer arietinum Linn.).

(1) Capacity of different strains of nodule bacteria.
(2) Influence of the variety of host plant.
(3) Effect of different amounts of solar radiation.

Since Fred, Baldwin and McCoy reviewed the literature on the subject recently and the subsequent developments were discussed elsewhere (15, 18) no attempt is made here to repeat the same.

Experimental work.

The cultures unsed here are the same as those described in the previous parts, only, in a few cases their names have been slightly abreviated for convenience.

The general technique adopted here was the same as that described in the earlier parts (13, 15).

The variety of red gram seeds used up to the month of September 1932, was K-838 Conard, California, but, as this variety was exhausted and no more of this could be procured, the variety A. C. 218, New Era Strain D, from Hawaii Islands was used subsequently instead. All the other varieties of seeds used except the 'Kabuli' variety of gram were obtained from Coimbatore, India, whereas, the 'Kabuli' variety of seeds available in the grocery stores at Madison, Wisconsin, were used.

In gram, two varieties are known in India; one of them is the small seeded, brown coloured variety known as the local or 'Desi' vatiety, grown extensively almost everywhere in India, where favourable dew fall and

winter season prevail, and the other variety is the big seeded and the grey coloured one, known as the 'Kabuli' variety. The latter was introduced into India only recently and is now grown to a very limited extent in Northern India, where the winter is very severe and prolonged. Botanists (2, 6) considered these two varieties very distinct from each other and Dixit considered them to be two separate species of the genus Cicer. In view of their economic importance in India, experiments were conducted on both the varieties of gram.

Experiments described below were conducted during five different seasons of the year at Madison, Wisconsin, USA. The relative intensity and duration of solar radiation prevalent during these seasons are as following:

%	Season. 1 st.	2 nd.	3 rd.	4 th.	5 th.
Intensity	94	100	72	37	8
Duration	85	100	97	62	32

The solar radiation was at its highest during the second season, but was gradually dropping down in the subsequent seasons up to the third season and abruptly in the fourth and the fifth seasons.

Table 1. Showing the Effectiveness of Different Strains of Nodule Bacteria of the Cowpea Group on Red Gram Plants. Sown on March 12, '32. Harvested on Sept. 19, '32. (Age 25 weeks.) 1,774 hrs. Sun-shine, Solar rad. 807,700 g. cal. per sq. cm. (452 per hr.) (Yield per ten plants.)

Treatment	Shoots Av. Height Inches	Roots Av. Length Inches	Yield Dry Matter g.	Yield Total N. mg.	Remarks
Control . .	6.5	6.5	2.05	19.74	Leaves yellow, only few.
Cowpea 606	12.0	7.5	8.56	120.23	Leaves dark green; nodules: Size medium, on tap and side roots, new ones forming.
Cowpea 602	14.0	6.0	8.56	119.32	Leaves dark green; nodules: Size big, on upper side root.
Dew Gram 34	8.0	7.0	3.16	28.47	Leaves few, pale green; nodules: Very few, size medium, on side roots, colour black.
Mat bean .	11.5	5.5	8.73	93.11	Leaves dark green; nodules: Size medium, on side roots old and new ones equal in numbers.
Black Gram 2	13.0	7.5	9.61	102.60	Leaves pale green, better than Black gram 1; nodules: Size big, on side roots, many new ones.
Black Gram 1	12.5	6.5	6.66	67.57	Leaves pale green; nodules: Fresh ones forming on side roots.
Mung . . .	9.0	7.0	7.47	102.34	Leaves dark green; nodules: Size big and medium, on side roots, many new ones and a few old ones.

Table 2. Showing the Variations in the Production of Dry Matter and Nitrogen Content of Different Parts of Red Gram Plants Treated with Different Cultures.

Sown on March 12, '32. Harvested on Sept. 19, '32. (Age 25 weeks.)
1,774 hrs. Sun-shine, Solar rad. 807,700 g. cal. per sq. cm. (452 per hr.)
(Per 10 Plants.)

Treatment	Roots			Stems			Leaves		
	Dry Matter g.	N. %	Total N. mg.	Dry Matter g.	N. %	Total N. mg.	Dry Matter g.	N. %	Total N. mg.
Control	1.25	1.096	13.70	0.67	0.641	4.30	0.13	1.337	1.74
Cowpea 600 . .	3.82	1.174	44.89	3.27	1.310	42.86	1.47	2.210	32.48
Cowpea 602 . .	3.48	1.196	41.64	3.50	1.433	41.00	1.58	2.329	36.68
Dew Gram 34 .	1.66	0.932	15.46	1.09	0.627	6.82	0.41	1.498	6.19
Mat bean . . .	3.80	0.963	32.61	3.07	0.795	24.41	1.86	1.930	36.09
Black Gram 2 .	4.07	0.962	39.10	3.19	0.777	24.77	2.35	1.647	38.73
Black Gram 1 .	2.62	1.107	29.00	2.32	0.605	14.04	1.72	1.426	24.53
Mung	3.77	0.973	36.66	2.46	1.595	40.15	1.24	2.059	25.53

Results.

Red Gram or pigeon pea (Cajanus indicus Spreng.).

The results of inoculation on red gram plants during the first season are given in Tables 1 and 2.

In considering these results, the nitrogen fixing capacity of the culture was taken as the criterion of its effectiveness.

The results indicate the following:

(1) The increase in dry weight and the increase in total nitrogen of the host plant do not appear to always go hand in hand. The cultures, Cowpea 600 and Cowpea 602, were effective in fixing the total nitrogen in their host plant, but they were not equally so in increasing the dry weight; whereas, Black Gram 2, produced the maximum dry weight and fixed lower amount of total nitrogen in its host plant.

(2) In all cases, the size of the nodules were almost the same, but in the case of the effective cultures like Cowpea 600, the majority of the nodules were located either on the tap root or in its proximity on the side roots. Poorer strains like Dew Gram 34 and Black Gram 1, produced fewer nodules scattered on the side roots. The colour of the nodules produced by the poorer cultures was black, indicating thereby that no fresh nodules were formed at the time of examination.

(3) Where effective cultures were used, the leaves were intensively green, and the percentage increase in the dry matter of the leaves due to inoculation was greater than that of either the stem or the roots. The colour of the leaves was green when treated with more effective cultures like Cowpea 600, etc., which fixed the maximum amount of total nitrogen. Although the culture Mung was less effective in its nitrogen fixing capacity, caused the production of greenish leaves in its host plant. But it will be seen that the percentage of nitrogen in the leaves in this treatment was very high. The leaves were fewer in number and paler in colour when treated with poorer strains like Dew Gram 34. The dry weight and the total nitrogen content of the leaves were the highest the when inoculated with Black Gram 2, which also produced the highest dry weight in the whole plant. The percentage of

nitrogen was, however, lower than those treated with other more efficient cultures like Cowpea 600 and Cowpea 602. The percentage increase in dry weight, due to treatment, was more in the leaves than in either the stems or in the roots.

(4) The height of the shoots increased on inoculation but this increase does not appear to bear any relation to the effectiveness of the cultures. The dry weight, the percentage of nitrogen and the total nitrogen of the stems were increased by the efficient cultures like Cowpea 600 and Cowpea 602. The percentage distribution of dry matter and the total nitrogen was higher in the shoots when inoculated with more efficient cultures.

(5) The variations in the length of the roots were somewhat erratic. The root length was depressed in some cases on inoculation, while increased in others. The dry weight of the roots decreased slightly on inoculation, unlike in the leaves, although the percentage of nitrogen and the total nitrogen were higher. The dry weight of the roots, thus, varied inversely as the leaves. The percentage distribution of dry matter and the total nitrogen in the control plants and in those treated with less efficient cultures were greater in the roots than in the shoots and this relationship was reversed when more efficient cultures were used.

The effectiveness of various strains of nodule bacteria during the second season are given in Tables 3 and 4.

Table 3. Showing the Effectiveness of Different Strains of Nodule Bacteria of the Cowpea Group on Red Gram Plants.

Sown on May 20, '32. Harvested on Aug. 7, '32. (Age 10½ weeks.)
869 hrs. Sun-shine, Solar rad. 416,800 g. cal. per sq. cm. (481 per hr.)
(Yield per ten plants.)

Treatment	Shoots Av. Height Inches	Yield		Remarks
		Dry Matter g.	Total Nitrogen mg.	
Control	10.5	3.28	27.32	Leaves pale.
Cowpea 600 . . .	14.0	7.45	133.41	Leaves dark green; nodules: size medium, on side roots nearer to the tap root.
Cowpea 602 . . .	13.5	6.79	124.95	Leaves dark green; nodules: size medium, on side roots nearer to the tap.
Dew Gram 34 . .	11.0	4.69	50.38	Leaves pale; nodules: size big, on lower half of the side roots.
Mat bean	12.5	5.34	107.46	Some plants with green leaves and others with pale leaves; nodules size big, on upper half of the side roots.
Black Gram 2 . .	13.5	6.51	108.99	Leaves green, especially towards the borders; nodules: size big and medium, on upper half of the side roots.
Black Gram 1 . .	12.5	4.94	70.91	Leaves light green, greener towards the borders; nodules: size big and medium, scattered throughout the side roots.
Mung	12.5	6.57	127.36	Leaves pale green, growth less; nodules: size big, on side roots nearer to the tap root.

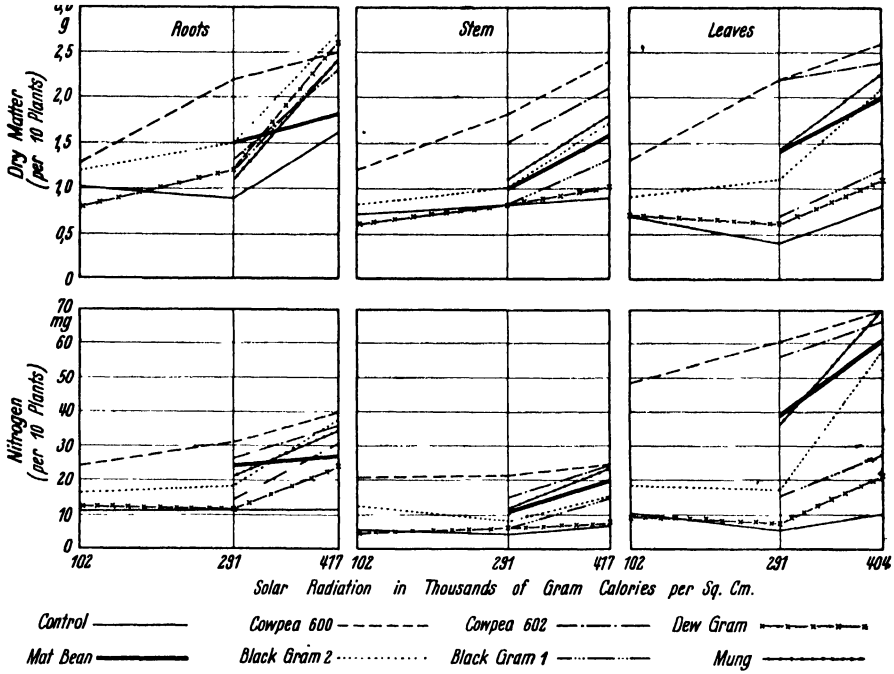


Fig. 1. Effect of Inoculation in Different Seasons on the Dry Matter and Nitrogen Content of Red Gram Plants.

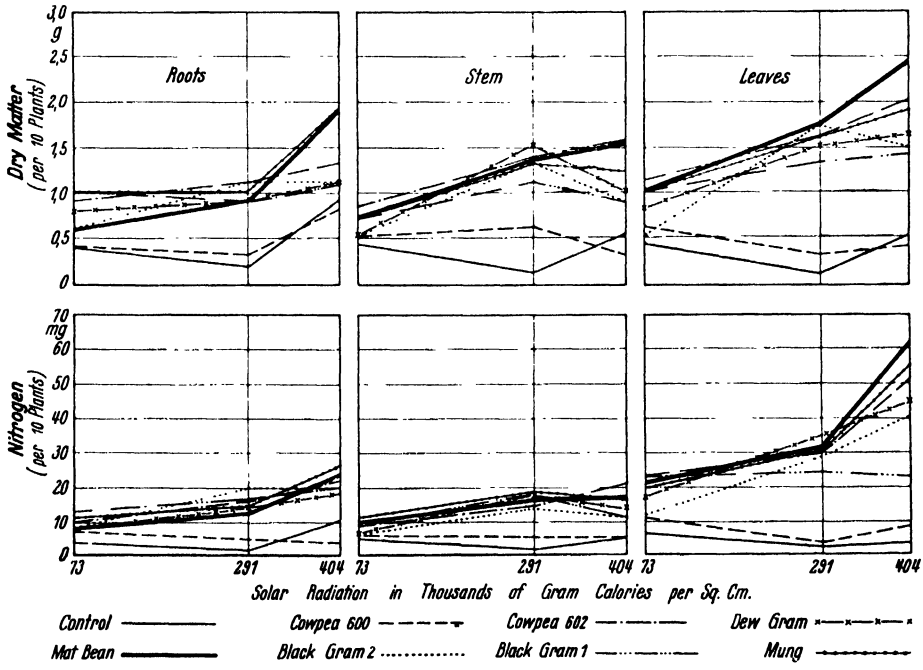


Fig. 2. Effect of Inoculation in Different Seasons on the Dry Matter and Nitrogen Content of Green Gram Plants.

Table 4. Showing the Variations in the Production of Dry Matter and Nitrogen Content of Different Parts of Red Gram Plants Treated with Different Cultures.

Sown on May 20, '32. Harvested on Aug. 7, '32. (Age 10½ weeks.)
869 hrs. Sun-shine, Solar rad. 416,800 g. cal. per sq. cm. (481 per hr.)

(Per 10 Plants.)

Treatment	Roots			Stems			Leaves		
	Dry Matter g.	N. %	Total N. mg.	Dry Matter g.	N. %	Total N. mg.	Dry Matter g.	N. %	Total N. mg.
Control	1.58	0.726	11.48	0.87	0.707	6.09	0.83	1.174	9.75
Cowpea 600 . .	2.53	1.558	39.41	2.36	1.016	23.98	2.56	2.735	70.02
Cowpea 602 . .	2.28	1.561	35.59	2.14	1.031	23.64	2.37	2.772	65.72
Dew Gram 34 .	2.56	0.904	23.14	1.02	0.681	6.95	1.11	1.828	20.29
Mat bean . . .	1.78	1.502	26.74	1.56	1.317	20.45	2.00	3.014	60.27
Black Gram 2 .	2.73	1.365	37.27	1.70	0.891	15.15	2.08	2.671	55.57
Black Gram 1 .	2.41	1.242	29.93	1.34	1.077	14.35	1.19	2.238	26.63
Mung	2.35	1.459	34.31	1.84	1.247	22.95	2.38	2.945	70.10

The effect of higher intensity of light (6%) reflected in an increased plant growth and a better fixation of nitrogen. Cultures Cowpea 600 and Cowpea 602, maintained their superiority over the remaining cultures. Black Gram 2, which caused the production of the maximum dry weight in its host plant during the first season was only fouth in rank during this season; whereas Mung was very much improved.

The type of nodulation was more or less the same as in the previous test.

The colour of the leaves was green when their total nitrogen content was high and it was only pale green when the nitrogen content was low. It was, however, only pale when inoculated with Mat bean and Mung although they increased the nitrogen content of the leaves appreciably.

As observed in the previous season, the height of the shoots had no correlation with the effectiveness of the culture. The dry weight, the percentage of nitrogen and the total nitrogen of the stems ran parallel with those of the leaves; only the former were comparatively of a lower magnitude throughout.

The dry matter, the total nitrogen and the percentage of nitrogen of the roots also increased on inoculation with efficient cultures, but, these increases were not greater as compared with either the leaves or the stems. In this respect, the stems always stood between the leaves and the roots. When the plants were either not inoculated at all or inoculated only with poorer cultures, these quantities were, however, greater in the roots than in the leaves.

The growth and the yield of different parts of the plant due to inoculation in the third test are presented in Tables 5 and 6.

During this season as a result of the lowered intensity of solar radiation (28%) both the dry weight and the nitrogen fixed were reduced in all cases. The several cultures, however, maintained their relative positions; but, in a few cases, Mung, Black Gram 2, etc. the fall observed were very considerable. The controls suffered the most.

The type of nodulation was not different from that of the previous tests.

The fall in the dry matter and total nitrogen content of the leaves, due to the poor conditions of light, was not so marked as it was in either

Table 5. Showing the Effectiveness of Different Strains of Nodule Bacteria of the Cowpea Group on Red Gram Plants.

Sown on July 4, '32. Harvested on Sept. 23, '32. (Age 10½ weeks.)
847 hrs. Sun-shine, Solar rad. 290,900 g. cal. per sq. cm. (344 per hr.)
(Yield per ten plants.)

Treatment	Shoots Av. Height Inches	Roots Av. Length Inches	Yield Dry Matter g.	Yield Total N. mg.	Remarks
Control . .	9.0	5.5	2.06	20.06	Leaves pale yellow.
Cowpea 600	13.0	5.5	6.11	110.45	Leaves dark green; nodules: good, on upper side roots near tap root.
Cowpea 602	10.0	6.0	4.98	95.86	Leaves dark green, slightly attack by rust; nodules: size big and medium, on upper side roots nearer to the tap.
Dew Gram 34	10.0	6.0	2.50	22.96	Leaves pale; nodules: few, size big, on side roots.
Mat bean .	10.0	5.5	3.86	71.70	Leaves dark green, some plants with pale green to pale yellow leaves, turn green after 50 days. Nodules: size big and medium, scattered on upper side roots.
Black Gram 2	10.0	5.0	3.60	41.92	Leaves pale green to greenish yellow; nodules: size big, scattered on side roots.
Black Gram 1	10.5	5.0	2.77	33.18	Leaves pale; nodules: few, size big, on lower side roots.
Mung . . .	10.5	6.0	3.53	66.59	Leaves dark green to pale green, pale leaves began to become green after 40 days old; nodules: size big, on upper side roots.
Horse Gram 1	10.0	6.0	4.99	92.67	Leaves green but not quite uniform in colour; nodules: size big and medium, on upper side roots.
Red Gram 39	12.5	6.0	4.99	87.47	Leaves green; nodules: size big and medium, on upper side roots.
Lablab . .	10.5	6.0	4.54	86.34	Leaves green to light green; nodules: size medium, on upper side roots nearer to the tap root.

the stems or the roots. In respect of the colour of the leaves, the observations were similar to what were noted previously, except that in some treatments, Mat bean and Mung, the pale leaves tended to recover and became green from after 40 to 50 days. This point will be referred to again later.

The effectiveness and the percentage of nitrogen in the leaves, the stems and the roots of the crop in the fourth season are given in Tables 7 and 8.

Table 6. Showing the Variations in the Production of Dry Matter and Nitrogen Content of Different Parts of Red Gram Plants. Treated with Different Cultures.

Sown on July 4, '32. Harvested on Sept. 23, '32. (Age 10½ weeks.)
847 hrs. Sun-shine, Solar rad. 290,900 g. cal. per sq. cm. (344 per hr.)
(Per 10 Plants.)

Treatment	Roots			Stems			Leaves		
	Dry Matter g.	N. %	Total N. mg.	Dry Matter g.	N. %	Total N. mg.	Dry Matter g.	N. %	Total N. mg.
Control	0.91	1.167	10.62	0.75	0.595	4.46	0.40	1.245	4.98
Cowpea 600 . .	2.15	1.394	29.97	1.80	1.157	20.83	2.16	2.761	59.65
Cowpea 602 . .	1.32	1.944	25.66	1.45	0.988	14.33	2.21	2.528	55.87
Dew Gram 34 .	1.15	0.954	10.97	0.80	0.565	4.52	0.55	1.358	7.47
Mat bean . . .	1.51	1.574	23.77	0.99	1.010	10.00	1.36	2.789	37.93
Black Gram 2 .	1.53	1.181	18.07	1.00	0.650	6.50	1.07	1.622	17.35
Black Gram 1 .	1.24	1.130	14.01	0.84	0.614	5.16	0.69	1.384	14.01
Mung	1.07	1.918	20.52	1.09	1.042	11.36	1.37	2.534	34.71
Horse Gram 1 .	1.68	1.981	33.28	1.40	0.992	13.89	1.91	2.382	45.50
Red Gram 39. .	2.08	1.767	36.75	1.24	0.912	11.31	1.67	2.360	39.41
Lablab	1.96	1.793	35.15	1.03	1.103	11.36	1.55	2.570	39.83

Table 7. Showing the Effectiveness of Different Strains of Nodule Bacteria of the Cowpea Group on Red Gram Plants.

Sown on Aug. 11, '32. Harvested on Oct. 29, '32. (Age 79 days.)
582 hrs. Sun-shine, Solar rad. 101,800 g. cal. per sq. cm. (176 per hr.)
(Per 10 Plants.)

Treatment	Shoots Av. Height Inches	Roots Av. Length Inches	Number of Nodules	Yield		Remarks
				Dry Matter g.	Total N. mg.	
Control . . .	6.5	8.0	—	2.41	26.54	Leaves greenish yellow.
Cowpea 600 .	7.3	9.5	195	3.75	92.88	In 4th. pair of leaves, dark green.
Dew Gram 34.	5.5	7.0	30	2.15	24.87	Leaves greenish yellow.
Black Gram 2	7.8	9.0	6	2.88	45.45	Leaves yellowish green.

Table 8. Showing the Variations in the Production of Dry Matter and Nitrogen Content of Red Gram Plants Treated with Different Cultures.

Sown on Aug. 11, '32. Harvested on Oct. 29, '32. (Age 79. days.)
582 hrs. Sun-shine, Solar rad. 101,800 g. cal. per sq. cm. (176 per hr.)
(Per 10 Plants.)

Treatment	Roots			Stems			Leaves		
	Dry Matter g.	N. %	Total N. mg.	Dry Matter g.	N. %	Total N. mg.	Dry Matter g.	N. %	Total N. mg.
Control	0.97	1.104	10.71	0.70	0.765	5.36	0.74	1.361	10.07
Cowpea 600 . .	1.33	1.798	23.92	1.15	1.785	20.53	1.27	3.813	48.43
Dew Gram 34 .	0.84	1.478	12.42	0.59	0.670	3.95	0.72	1.180	8.50
Black Gram 2 .	1.19	1.339	15.90	0.80	1.498	12.00	0.89	1.972	17.55

The intensity and the duration of solar radiation which obtained during this period were conspicuous by being very low. Evidently consequent on this, the crop was stunted in its growth, while the general trend of observations made here was similar to what was noted in the three previous experiments.

The following observations mark out, however, this experiment from what preceeded.

(1) The root length was greater.

(2) Although the dry weight of the leaves in the cases of both the best and the worst cultures did not appear to differ by much, yet, the nitrogen percentage was greater in the case of the best cultures than in that of the poor ones.

(3) The control plants appeared to be the least affected.

(4) The plants inoculated with Dew Gram 34 were poorer than the controls both in their dry weight and their total nitrogen.

In the fifth season, the variety of red gram seeds used were from Hawaii and the results of these studies are embodied in Tables 9 and 10.

Table 9. Showing the Effectiveness of Different Strains of Nodule Bacteria of the Cowpea Group on Red Gram Plants.
Sown on Oct. 12 a. 13, '32. Harvested on Jan. 6, '33. (Age 85 to 86 days.)
328 hrs. Sun-shine, Solar rad. 12,000 g. cal. per sq. cm. (37 per hr.)
(Per 10 Plants.)

Treatment	Shoots Av. Height Inches	Roots Av. Length Inches	Number of Nodules	Yield		Remarks
				Dry Matter g.	Total N. mg.	
Control . . .	8.3	8.5	—	4.37	52.21	
Cowpea 600 .	9.3	11.0	91	4.29	125.39	Leaves dark green.
Cowpea 602 .	8.3	9.0	7	3.85	106.51	Leaves light green, 1 or 2 plants with pale leaves.
Dew Gram 34 .	8.3	6.0	3	3.49	47.10	Leaves pale, roots slightly got mat-matted.
Black Gram 2	7.3	12.5	1	2.93	36.94	Leaves pale.
Mung	8.0	11.0	39	2.97	67.04	Leaves light green to pale.
Red Gram 1 .	8.0	14.0	330	3.01	54.56	Leaves mostly pale green, some light green.
Red Gram 2 .	8.8	6.0	350	2.93	46.64	Leaves pale green to pale.

Both the intensity and the duration of solar radiation prevailing during this season were the lowest of all the seasons tried. Even in spite of deficiency of light, the controls were considerably better than the corresponding plants of the Californian variety grown under more favourable conditions of sunlight. This is evidently due to the varietal differences.

While allowing for better growth due to the varietal difference, it will be seen that in general, the several cultures maintained their relative ranks in their nitrogen fixing capacity as observed in the previous experiments. Their magnitude was, however, lower than that observed in previous seasons,

Table 10. Showing the Variations in the Production of Dry Matter and Nitrogen Content of Red Gram Plants Treated with Different Cultures.

Sown on Oct. 12 to 13, '32. Harvested on Jan. 6, '33. (Age 85 to 86 days.)
328 hrs. Sun-shine, Solar rad. 12,000 g. cal. per sq. cm. (37 per hr.)
(Per 10 Plants.)

Treatment	Roots			Stems			Leaves		
	Dry Matter g.	N. %	Total N. mg.	Dry Matter g.	N. %	Total N. mg.	Dry Matter g.	N. %	Total N. mg.
Control	2.04	1.231	25.11	1.19	0.672	8.00	1.14	1.675	19.10
Cowpea 600 . .	1.39	2.044	28.41	1.22	2.727	33.27	1.68	3.792	63.71
Cowpea 602 . .	1.27	2.529	32.12	1.06	1.523	16.14	1.52	3.833	58.25
Dew Gram 34 .	1.51	1.444	21.75	1.05	0.802	8.42	0.93	1.820	16.93
Black Gram 2 .	1.25	1.359	16.99	0.86	0.689	5.93	0.82	1.710	14.02
Mung	1.06	1.842	19.53	0.82	1.240	10.17	1.09	3.426	37.34
Red Gram 1 . .	1.10	2.049	22.54	0.90	0.831	7.48	1.01	2.430	24.54
Red Gram 2 . .	1.10	1.718	19.00	0.96	0.804	7.72	0.87	2.289	19.92

Table 11. Showing the Effectiveness of Different Strains of Nodule Bacteria of the Cowpea Group on Green Gram Plants.

Sown on May 21, '32. Harvested on Aug. 5, '32. (Age 10 weeks.)
842 hrs. Sun-shine, Solar rad. 403,500 g. cal. per sq. cm. (515 per hr.)
(Per 10 Plants.)

Treatment	Shoots Av. Height Inches	Yield		Remarks
		Dry Matter g.	Total Nitrogen mg.	
Control	4.0	1.83	16.60	Very few leaves, partially dried up.
Cowpea 600 . . .	4.5	1.46	14.23	Very poor growth, tops drying up; nodules: size small, very few, scattered on the side roots.
Cowpea 602 . . .	7.0	4.81	91.11	Good growth and uniform; nodules: size medium, on the tap root and side roots near to the tap.
Dew Gram 34 . .	5.0	3.63	73.46	Growth uniform, leaves green; nodules: size small and medium, on the upper side roots.
Mat bean	7.5	5.78	99.21	Back row plants tall and healthy; nodules: good, on the tap and the upper side roots near to the tap.
Black Gram 2 . .	4.0	3.49	69.95	Growth uniform, leaves green; nodules: size medium and big, on the upper side roots and the tap.
Black Gram 1 . .	6.5	3.48	52.41	Back row plants taller; nodules: size big, on the tap root.
Mung	7.5	4.99	93.43	Very good growth, back row plants tall, leaves broad; nodules: size big and medium, on tap and upper side roots nearer to the tap root.

Berichtigung

zur Arbeit V von **M. S. Raju**. Untenstehende Abbildung ist als Abb. 3 auf Seite 299 dieses Bandes an Stelle der dort veröffentlichten Abbildung 3 einzusetzen.

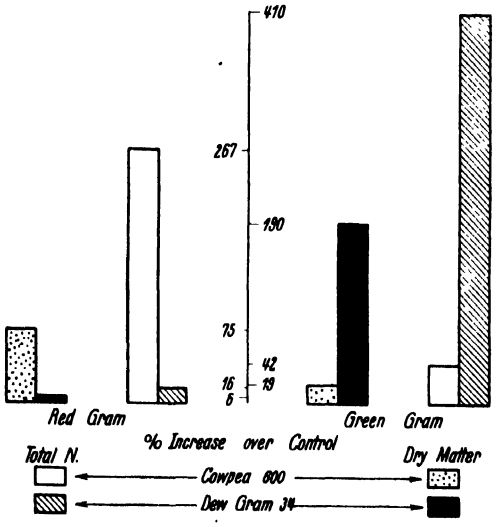


Abb. 3

and in some cases, the plants treated with some cultures contained less total nitrogen than the controls.

The total dry matter produced in all the inoculated plants was lower than that of the controls. This suggests, under deficiency of light, the root nodule bacteria may deplete the carbohydrate reserve of the host plant for their energy requirements.

Green Gram or mung bean (Phaseolus radiatus, Linn.).

The results of experiments conducted during the first season are given in Tables 11 and 12.

Table 12. Showing the Variations in the Production of Dry Matter and Nitrogen Content of Different Parts of Green Gram Plants Treated with Different Cultures.

Sown on May 21, '32. Harvested on Aug. 5, '32. (Age 10 weeks.)
842 hrs. Sun-shine, Solar rad. 403,500 g. cal. per sq. cm. (515 per hr.)
(Per 10 Plants.)

Treatment	Roots			Stems			Leaves		
	Dry Matter g.	N. %	Total N. mg.	Dry Matter g.	N. %	Total N. mg.	Dry Matter g.	N. %	Total N. mg.
Control	0.89	1.039	9.25	0.47	0.913	4.20	0.47	0.671	3.15
Cowpea 600 . .	0.81	0.659	3.34	0.30	1.252	3.76	0.35	2.037	7.13
Cowpea 602 . .	1.29	1.623	20.95	1.53	1.303	19.93	1.99	2.524	50.23
Dew Gram 34 .	1.08	1.540	16.63	0.96	1.319	12.66	1.59	2.778	44.17
Mat bean . . .	1.91	1.213	23.16	1.52	1.051	15.97	2.35	2.556	60.08
Black Gram 2 .	1.10	1.729	19.02	0.89	1.249	11.12	1.50	2.654	39.81
Black Gram 1 .	1.11	1.683	18.68	0.93	1.116	10.38	1.44	1.621	23.35
Mung	1.87	1.316	24.55	1.20	1.215	14.58	1.92	2.828	54.30

One of the outstanding observations made in this experiment is that the variety of host plant used, although from the same bacterial-plant group, exercises a profound influence on the effectiveness of a given strain of nodule bacteria. For instance, the culture Cowpea 600, which was most effective on red gram, became least effective on green gram plants; whereas, the cultures Mat bean and Dew gram 34, which were poor on red gram, were very efficient on green gram, in spite of the fact that both these host plants belong to the same cowpea bacterial-plant group. The difference in the effectiveness of several cultures were narrower on green gram than on red gram plants.

The percentage increase of dry matter and total nitrogen due to inoculation were far greater in the green gram than the corresponding increases in the red gram plants under any given set of light conditions.

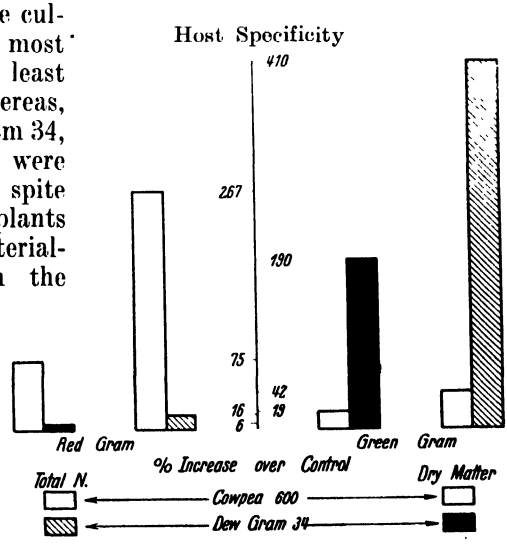


Fig. 3.

Mat bean was most effective and Mung and Cowpea 602 followed it. Cowpea 600 was the poorest of all the cultures. The fixation of nitrogen and the production of dry matter did not always go hand in hand. In the case of the culture, Cowpea 600, the dry weight was less than that of the control, but the percentage of nitrogen in the leaves of its host plant is far greater than that of the control plants.

The nodulation was good in the case of Mat bean; whereas, Cowpea 600 produced only poor nodules. The latter were small, few, and scattered on the side roots. This affords an instance of the fourth type of nodulation by the ineffective cultures, in addition to the three new types observed in

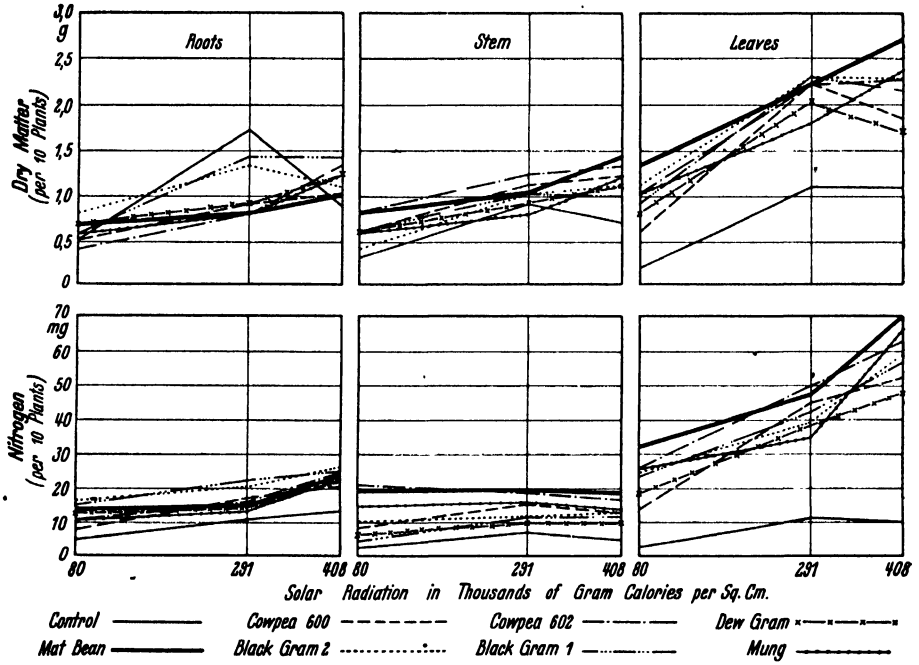


Fig. 4. Effect of Inoculation in Different Seasons on the Dry Matter and Nitrogen Content of Horse Gram Plants.

the red gram crop. The culture, Black Gram 1, produced large nodules on the tap root of its host plant (Green gram), yet, its effectiveness was low. A similar observation was noted earlier (15).

The leaves of the inoculated plants were all green, but among themselves, there existed but slight gradations in the shades of their colour; whereas, these differences were more marked in the red gram plants. These differences probably owe to the fact that green gram plants tended to narrow down the difference in the effectiveness of the cultures, while red gram plants widen them. The plants inoculated with Cowpea 600 had the palest leaves and so were those of the controls. In these two cases the tips of the leaves were drying up and dropping off.

The yield of dry matter, the total nitrogen, etc., as affected by inoculation in the second season are recorded in Tables 13 and 14. In this experiment three new cultures, Horse Gram 1, Red Gram 39 and Lablab were also added for study.

Table 13. Showing the Effectiveness of Different Strains of Nodule Bacteria of the Cowpea Group on Green Gram Plants.

Sown on July 4, '32. Harvested on Sept. 23, '32. (Age 10½ weeks.)
837 hrs. Sun-shine, Solar rad. 290,600 g. cal. per sq. cm. (346 per hr.)
(Per 10 Plants.)

Treatment	Shoots Av. Height Inches	Roots Av. Length Inches	Yield Dry Matter g.	Yield Total N. mg.	Remarks
Control . .	6.0	4.5	0.37	4.13	Leaves pale and drying.
Cowpea 600	7.5	5.0	1.12	10.87	Leaves pale tips drying; nodules: very small, scattered on side roots.
Cowpea 602	9.0	4.5	4.00	57.73	Leaves green; nodules: size medium, on tap and side roots.
Dew Gram 34	8.0	4.5	3.95	62.79	Leaves green; nodules: many, size medium, on tap root.
Mat bean .	7.0	5.5	3.85	59.01	Leaves green; nodules: size big and medium, on tap and side roots.
Black Gram 2	7.5	5.5	4.14	59.11	Leaves green; nodules: many, size big, on tap root.
Black Gram 1	7.0	5.0	3.37	55.51	Leaves green; nodules: size big, on tap root.
Mung . . .	7.0	6.0	3.98	60.02	Leaves green; nodules: size medium, on tap root.
Horse Gram	7.0	6.0	3.81	57.54	Leaves green; nodules: size big, on tap root.
Red Gram 39	6.0	5.0	3.36	49.31	Leaves light green; nodules: size, big, on the upper side roots.
Lablab . .	8.0	6.5	4.22	65.86	Leaves light green; nodules: size big and medium, on tap and side roots.

Consequent on the decrease in the solar radiation, both the dry weight and the total nitrogen fixed during this season were reduced, but the fall in the latter was more marked. Again, of the several cultures tried, Mat bean, Mung and Cowpea 602 appeared to be more susceptible to the adverse influence of deficient light than the rest. Of the three new cultures, Lablab, proved to be the most effective and ranked first in this experiment while the culture Red gram 39 was least effective.

One interesting point to be noted is that in spite of comparatively deficient light conditions there was a tendency for a general increase in the dry weight and the total nitrogen content of the stems. The stems were also taller during this season. This is in striking contrast to a general lowering observed in the dry weight and the total nitrogen contents of the red gram stems under similar conditions of light.

The nodulation was good in the three new cultures, and in the rest it was similar to that observed in the previous season.

Table 14. Showing the Variations in the Production of Dry Matter and Nitrogen Content of Different Parts of Green Gram Plants Treated with Different Cultures.

Sown on July 4, '32. Harvested on Sept. 23, '32. (Age 10½ weeks.)
837 hrs. Sun-shine, Solar rad. 290,600 g. cal. per sq. cm. (346 per hr.)
(Per 10 Plants.)

Treatment	Roots			Stems			Leaves		
	Dry Matter g.	N. %	Total N. mg.	Dry Matter g.	N. %	Total N. mg.	Dry Matter g.	N. %	Total N. mg.
Control	0.22	0.438	0.96	0.09	1.242	1.12	0.06	3.413	2.05
Cowpea 600 . .	0.30	1.286	3.86	0.55	0.754	4.15	0.27	1.059	2.86
Cowpea 602 . .	1.12	1.169	13.90	1.29	1.119	14.43	1.59	1.849	29.40
Dew Gram 34 .	0.91	1.449	13.21	1.51	1.045	15.78	1.53	2.209	33.80
Mat bean . . .	0.85	1.460	12.41	1.31	1.152	15.23	1.69	1.856	31.37
Black Gram 2 .	1.07	1.662	17.78	1.33	0.989	13.16	1.74	1.619	28.17
Black Gram 1 .	0.93	1.615	15.02	1.14	1.415	16.13	1.30	1.874	24.36
Mung	1.04	1.203	12.51	1.30	1.344	17.07	1.64	1.856	30.44
Horse Gram 1 .	0.90	1.651	14.86	1.27	1.168	14.83	1.64	1.698	27.85
Red Gram 39 . .	0.91	1.676	15.22	1.14	0.958	10.92	1.61	1.439	23.17
Lablab	1.01	1.772	17.91	1.31	1.048	13.73	1.90	1.801	34.22

The leaves of the plants treated with Lablab were only light green in colour, although the total nitrogen was very high. But, it will be seen that the percentage of nitrogen in the leaves was poorer than that in other plants which had less total nitrogen.

The effect of inoculation on the yield of green gram in the third season are presented in Tables 15 and 16. During this season the study was confined to the cultures used in the first season with the culture, Red Gram 1, added to them.

Comparing the nitrogen fixed in the first season when the light conditions were favourable (Four times greater than that prevalent during this season) the cultures, Mat bean, Mung and Cowpea 602, were very much deteriorated during this season. Dew Gram 34 and Black Gram 2, which did not suffer much in their effectiveness during the second season when the solar radiation was only $^2/_3$ rds. of that prevailing during the first season, they have, however, deteriorated considerably during the third season when the light had fallen down to $^1/_4$ th. From these observations it would appear that the minimum light requirements for the latter two cultures to function efficiently were of a lower order than those of the cultures, Mat bean, Mung and Cowpea 602.

The culture, Red Gram 1, produced big nodules in clusters on the tap root.

Even under the adverse conditions of light, the nitrogen in the leaves of both the inoculated and the uninoculated plants was higher than that in the roots. It may be recalled that this observation is in striking contrast with that noted in the red gram plants under similar conditions of light.

In the stems, the absolute values for dry matter and the total nitrogen were low, but, the percentage of nitrogen was high.

In all other respects, the observations were similar to those noted in the previous two season.

Table 15. Showing the Effectiveness of Different Strains of Nodule Bacteria of the Cowpea Group on Green Gram Plants.
Sown on 17-8-'32. Harvested on 22-10-'32. (Age weeks nearly.)
502 hrs. Sun-shine, Solar rad. 73,000 g. cal. per sq. cm. (146 per hr.)
(Per 10 Plants.)

Treatment	Shoots Av. Height Inches	Roots Av. Length Inches	Yield		Remarks
			Dry Matter g.	Total N. mg.	
Control . .	5.5	6.5	1.18	11.80	Leaves yellow, tips and tops drying.
Cowpea 600.	6.0	6.5	1.44	21.15	Leaves yellow, slightly attacked by mildew; nodules: small sized scattered on side roots.
Cowpea 602.	6.0	7.5	2.76	38.95	Leaves green, slight mildew attack; nodules: size medium, on tap and side roots.
Dew Gram 34	4.5	7.5	2.12	28.90	Leaves green; nodules: size medium, on side and tap roots.
Mat bean .	6.0	5.5	2.26	36.75	Leaves green; nodules: size big and medium, on tap and side roots.
Black Gram 2	5.0	5.5	1.56	22.99	Leaves green, some plants died; nodules: good, size medium; on tap and side roots.
Black Gram 1	5.5	5.0	2.66	41.43	Leaves light green, tips of old leaves dried; nodules good, size medium, on tap and side roots.
Mung . . .	5.5	5.5	2.69	38.82	Leavesgreen; nodules: few, size big, on tap root.
Red Gram 1	6.0	6.5	2.21	42.61	Leaves green, attacked by mildew; nodules: good, size big, on tap root in clusters.

Table 16. Showing the Variations in the Production of Dry Matter and Nitrogen Content of Different Parts of Green Gram Plants Treated with Different Cultures.
Sown on Aug. 17, '32. Harvested on Oct. 22, '32. (Age 9 weeks nearly.)
502 hrs. Sun-shine, Solar rad. 73,000 g. cal. per sq. cm. (146 per hr.)
(Per 10 Plants.)

Treatment	Roots			Stems			Leaves		
	Dry Matter g.	N. %	Total N. mg.	Dry Matter N.	N. %	Total N. mg.	Dry Matter g.	N. %	Total N. mg.
Control	0.41	0.814	3.30	0.41	0.924	3.80	0.36	1.304	4.70
Cowpea 600 . .	0.36	1.641	5.91	0.50	0.969	4.85	0.58	1.792	10.39
Cowpea 602 . .	0.88	1.030	9.06	0.82	0.955	7.83	1.06	2.081	22.06
Dew Gram 34. .	0.82	0.822	6.74	0.52	1.126	5.90	0.78	2.085	16.26
Mat bean . . .	0.58	1.248	7.24	0.71	1.305	9.27	0.97	2.087	20.24
Black Gram 2 .	0.56	1.243	6.97	0.49	1.097	5.38	0.51	2.087	10.64
Black Gram 1 .	0.95	1.253	11.91	0.67	1.177	7.89	1.04	2.080	21.63
Mung	1.01	0.932	10.29	0.73	1.372	10.02	0.95	1.948	18.51
Red Gram 1 . .	0.67	1.787	11.97	0.72	1.434	10.33	0.82	2.477	20.31

Horse Gram (Dolichos biflorus, Linn.).

The results of the experiments conducted during the first season are given in Tables 17 and 18.

Table 17. Showing the Effectiveness of Different Strains of Nodule Bacteria of the Cowpea Group on Horse Gram Plants.
Sown on May 21, '32. Harvested on Aug. 6, '32. (Age 10 weeks.)
Per 851 hrs. Sun-shine, Solar rad. 407,800 g. cal. per sq. cm. (483 per hr.)
(Yield per ten plants.)

Treatment	Shoots Av. Height Inches	Yield		Remarks
		Dry Matter g.	Total N. mg.	
Control	5.5	2.65	27.32	Leaves yellow, plants stunted in growth.
Cowpea 600 . . .	24.0	4.17	93.53	Leaves green to light green, light green leaves turned green uniformly.
Cowpea 602 . . .	16.0	4.81	101.73	Leaves green; nodules: few, size medium, on side roots in the central region.
Dew Gram 34 . .	18.0	3.94	77.59	Leaves light green, stems twining; nodules: scattered on side roots, but big.
Mat bean	22.0	5.01	110.95	Leaves dark green to green; nodules size medium, scattered on side roots.
Black Gram 2 . .	19.0	4.50	95.49	Leaves dark green, some stems twining; nodules: size medium and big, on side roots nearer to the tap, some fresh ones were just forming.
Black Gram 1 . .	20.5	4.62	92.25	Leaves green, stems twining; nodule size medium, scattered on side roots, colour white or brown.
Mung	20.0	4.80	100.47	Leaves green, stems twining; nodules: size medium, some on tap root while a few on side roots

Table 18. Showing the Variations in the Production of Dry Matter and Nitrogen Content of Different Parts of Horse Gram Plants Treated with Different Cultures.
Sown on May 21, '32. Harvested on Aug. 6, '32. (Age 10 weeks.)
851 hrs. Sun-shine, Solar rad. 407,800 g. cal. per sq. cm. (483 per hr.)
(Per 10 Plants.)

Treatment	Roots			Stems			Leaves		
	Dry Matter g.	N. %	Total N. mg.	Dry Matter g.	N. %	Total N. mg.	Dry Matter g.	N. %	Total N. mg.
Control	0.89	1.433	12.76	0.69	0.610	4.21	1.07	0.967	10.35
Cowpea 600 . .	1.03	1.903	19.60	1.20	1.050	11.55	1.94	2.700	52.38
Cowpea 602 . .	1.29	1.825	23.55	1.25	1.252	15.65	2.27	2.755	62.53
Dew Gram 34 .	1.18	1.786	21.08	1.10	0.851	9.32	1.66	2.258	47.19
Mat bean . . .	0.97	2.361	22.90	1.39	1.272	17.68	2.65	2.655	70.37
Black Gram 2 .	1.11	2.341	25.97	1.13	1.042	11.78	2.26	2.555	57.74
Black Gram 1 . .	1.44	1.730	24.92	0.99	1.074	10.63	2.19	2.589	56.70
Mung	1.18	1.887	22.27	1.20	1.105	13.28	2.42	2.683	64.92

Tabel 19. Showing the Effectiveness of Different Strains of Nodule Bacteria of the Cowpea Group on Horse Gram Plants. Sown on July 4, '32. Harvested on Sept. 24 and 25, '32. (Age 11 weeks.) 861 hrs. Sun-shine, Solar rad. 291,400 g. cal. per sq. cm. (340 per hr.)

(Yield, per ten plants.)

Treatment	Shoots Av. Height Inches	Roots Av. Length Inches	Yield		Remarks
			Dry Matter g.	Total N. mg.	
Control . .	4.0	7.0	3.15	28.88	Leaves pale yellow, Stems not twining.
Cowpea 600.	18.0	6.0	4.16	74.37	Leaves green to dark green, stems twining; nodules: size big, few, on lower tap and side roots.
Cowpea 602.	22.0	6.5	4.18	82.07	Leaves dark green, stems twining; nodules: size medium, on lower tap root and side roots nearer to the tap.
Dew Gram 34	17.0	5.5	3.74	60.22	Leaves green to light green, stems twining; nodules: very few, size big, scattered on side roots, some on lower tap root.
Mat bean. .	17.0	7.5	4.09	79.12	Leaves green, stems twining; nodules: size big, on lower tap root, a few good ones on the upper side roots nearer to the tap.
Black Gram 2	15.5	6.5	4.54	69.97	Nodules: size medium, in clusters on lower tap and upper side root.
Black Gram 1	16.0	6.0	4.78	75.24	Leaves green, stems twining; nodules: size medium and big, on tap upper side roots.
Mung . . .	13.0	6.5	3.44	62.78	Leaves green, stems twining; nodules: size medium, scattered on side roots, while a few on the tap root.
Horse Gram 1	22.5	6.0	4.14	78.64	Laeves dark green, stems twining; nodules: size medium, on lower tap and upper side roots nearer to the tap.
Red Gram 39	16.5	6.0	3.64	66.24	Leaves green, stems twining; nodules: good, size big on upper side roots.
Lablab . .	21.0	7.0	3.97	72.90	Leaves dark green, stems twining; nodules: size medium, on lower tap and side roots.

The season was very favourable for the growth of this variety of host plant. The variations in the effectiveness of various cultures used did not differ widely. In this respect, it resembles the green gram plants.

The culture, Mat bean, produced a large number of nodules scattered

Table 20. Showing the Variations in the Production of Dry Matter and Nitrogen Content of Different Parts of Horse Gram Plants Treated with Different Cultures.

Sown on July 4, '32. Harvested on Sept. 24 and 25, '32. (Age 11 weeks.)
861 hrs. Sun-shine, Solar rad. 291,400 g. cal. per sq. cm. (340 per hr.)

(Per 10 Plants.)

Treatment	Roots			Stems			Leaves		
	Dry Matter g.	N. %	Total N. mg.	Dry Matter g.	N. %	Total N. mg.	Dry Matter g.	N. %	Total N. mg.
Control	1.20	0.908	10.90	0.86	0.724	6.23	1.09	1.078	11.75
Cowpea 600. . .	0.89	1.767	15.69	1.08	1.315	14.20	2.19	2.027	44.48
Cowpea 602. . .	0.80	1.879	15.03	1.22	1.458	17.79	2.16	2.280	49.25
Dew Gram 34. .	0.85	1.682	14.20	0.92	0.972	8.94	1.97	1.882	37.08
Mat bean. . . .	0.84	1.651	13.87	1.03	1.699	18.50	2.22	2.106	46.75
Black Gram 2. .	1.31	1.546	20.25	0.96	1.154	11.08	2.27	1.702	38.64
Black Gram 1. .	1.42	1.542	21.90	1.05	1.069	11.23	2.31	1.823	42.11
Mung	0.82	1.553	12.74	0.83	1.852	15.38	1.79	1.936	34.66
Horse Gram 1. .	0.88	2.352	20.72	1.17	1.268	14.84	2.09	2.061	43.08
Red Gram 39. .	0.92	3.170	29.17	0.77	0.909	7.00	1.95	1.542	30.07
Lablab	0.92	2.614	24.05	1.06	1.015	10.76	1.99	1.914	38.09

on the side roots, approaching the description given by Helz, Baldwin and Fred for the ineffective cultures of the Pea group. But, Mat bean, on the other hand proved to be one of the best cultures on the horse gram plants. This once more suggests that the type of nodulation is no criterion of the effectiveness of a culture.

The following general observations are similar to those observed with the previous crops, especially with red gram.

The colour of the leaves was a fair index of the effectiveness of a culture. The dry weight and the total nitrogen contents of the leaves had a positive correlation with the effectiveness of a culture.

The height of the shoots increased by inoculation and this was about 3 to $4^1/_2$ times of that of the controls, but, it had no correlation with the effectiveness of the strain.

The dry weight of the roots was highest when treated with the culture, Black gram 1, which produced the lowest dry matter in the leaves; whereas, the culture, Mat bean, which produced the maximum dry matter in the leaves produced the lowest weight of the roots. A negative correlation was, therefore, observed between the effectiveness of the culture and the production of dry matter in the roots.

The effectiveness of various strains of nodule bacteria on the horse gram plants during the second season are recorded in Tables 19 and 20.

Three new cultures, Horse gram 1, Red gram 39 and Lablab were added in this season.

Due to a fall in the intensity of light, there was a general decrease in the relative effectiveness of the cultures. There was no marked change in their rank in fixing atmospheric nitrogen. All the three new cultures were very good on this crop.

The type of nodules produced by these three new cultures was good.

Due to a fall in the intensity of light, the effectiveness of the more efficient cultures fell more sharply as was observed in the green gram plants.

It is to be noted that as in green gram, the total nitrogen in the stems increased despite a fall in the light conditions; but, the dry matter in them more tended to remain constant than to increase. Simultaneously with this, there was observed a fall in the nitrogen content of the leaves. It may be mentioned here that both green gram and horse gram are short day crops compared with red gram, and perhaps due to this, there was a tendency for both of them to flower during this season. The nitrogen along with other food material was translocated from the leaves to the flowering parts through the stems. A similar observations was noted by Armstrong and Albert (1) in their studise on the distribution of nitrogen in the cotton plant at the time of flowering.

The controls had longer roots than the inoculated plants. The percentage distribution of dry matter and nitrogen in the roots decreased with a decrease in the light, the magnitude was greater in the latter.

The results of inoculation during the third season are given in Tables 21 and 22.

Table 21. Showing the Effectiveness of Different Strains of Nodule Bacteria of the Cowpea Group on Horse Gram Plants. Sown on Aug. 17, '32. Harvested on Nov. 12, '32. (Age 11½ weeks.) 582 hrs. Sun-shine, Solar rad. 80,100 g. cal. per sq. cm. (138 per hr.) (Yield per ten plants.)

Treatment	Shoots Av. Height Inches	Roots Av. Length Inches	Number of Nodules	Yield		Remarks
				Dry Matter g.	Total N. mg.	
Control . . .	4.3	6.5	—	0.89	8.99	Leaves pale.
Cowpea 600 .	13.0	7.0	23	1.58	29.61	Nodules on the side roots.
Cowpea 602 .	9.0	7.0	181	2.20	56.32	Leaves green.
Dew Gram 34	10.0	9.0	157	2.19	36.99	Leaves light green.
Mat bean . .	12.0	7.0	—	2.96	63.22	Leaves dark green; nodules: size medium, on tap root.
Black Gram 2 .	9.0	6.0	264	2.30	49.78	Leaves light green, Stems twining.
Black Gram 1 .	7.0	6.5	174	2.06	41.54	Leaves light green, to green; nodules: size big.
Mung	7.3	6.0	196	2.18	49.61	Leaves dark green; nodules: good.
Red Gram 1 .	15.5	9.0	344	1.67	39.57	Leaves light green.

The three new cultures added in the second season were deleted during the third season, and another new culture, Red Gram 1, was added instead.

The fall in the effectiveness of several cultures due to a fall in the conditions of light was similar to that noted in the case of green gram plants during the corresponding season.

Red Gram 1, produced the largest number (344 per plant) of nodules, the size of which did not differ much from those produced by the more effective cultures, and yet, this culture was the least effective. Thus, that nodulation and effectiveness of a culture do not go hand in hand is once more demonstrated.

Table 22. Showing the Variations in the Production of Dry Matter and Nitrogen Content of Different Parts of Horse Gram Plants Treated with Different Cultures.
Sown on Aug. 16 and 17, '32. Harvested on Nov. 12, '32. (Age 11½ weeks.)
582 hrs. Sun-shine, Solar rad. 80,100 g. cal. per sq. cm. (138 per hr.)
(Per 10 Plants.)

Treatment	Roots			Stems			Leaves		
	Dry Matter g.	N. %	Total N. mg.	Dry Matter g.	N. %	Total N. mg.	Dry Matter g.	N. %	Total N. mg.
Control	0.47	1.090	5.12	0.26	0.701	1.82	0.16	1.277	2.05
Cowpea 600 . .	0.46	1.676	7.71	0.55	1.536	8.45	0.57	2.361	13.45
Cowpea 602 . .	0.43	2.668	11.47	0.82	2.464	20.21	0.95	2.594	24.64
Dew Gram 34 .	0.71	1.616	12.92	0.64	0.904	5.79	0.84	2.176	18.28
Mat bean . . .	0.71	1.788	12.70	0.81	2.297	18.61	1.34	2.381	31.91
Black Gram 2 .	0.76	2.099	15.96	0.42	2.341	9.83	1.12	2.192	23.99
Black Gram 1 .	0.58	2.523	14.63	0.58	0.714	4.14	0.90	2.530	22.77
Mung	0.60	1.852	11.11	0.62	2.259	14.01	0.96	2.551	24.49
Red Gram 1 . .	0.49	3.152	15.44	0.66	1.409	9.30	0.52	2.851	14.83

Both the total nitrogen and the dry matter in the leaves fell down due to the deficiency of light, but the fall in the former was much sharper than that in the latter.

In this experiment, it was noted that with the cultures, Cowpea 600 and Dew Gram 34, the leaves were paler to start with and after a period of 5 to 6 weeks, the freshly forming leaves were greater and healthier than the older ones. It may be recalled that a similar observation was noted in the red gram crop. This phenomenon will be explained in detail elsewhere (16).

The percentage increase in dry matter and nitrogen content of the tops due to inoculation were the highest in this season than in the two preceding ones.

The length of the roots was increased under deficiency of light obtained during this season and this had no correlation with the effectiveness of the culture.

As already observed with the other crops, the effect of reduced intensity of light was to increase the ratio of roots to the whole plant at the expense of the leaves. This ratio was higher in the controls and in those inoculated with less effective cultures like Red Gram 1 and Black Gram 1.

The results given in Table 23 show that even though these three crops belong to the same Cowpea bacteria-plant group, the strain which was effective on one variety of host plant was not equally effective on the others. But on the other hand, an effective culture on one species of the host plant became least effective on another. This shows the existence of characteristic variations in the host specifity among different varieties of legumious plants although they all belong to the same bacterial-plant group. For instance, the culture Cowpea 600, the best one on red gram was least effective on green gram and moderately efficient on horse gram; whereas, Dew Gram 34, the least effective one on red gram was moderately beneficial on green gram and least effective on horse gram. Cultures like, Cowpea 602, etc., were uniformly beneficial on all the three varieties of host plants. Some of these were affected by the changes in the intensity and the duration of sunlight more than the others. Thus, both the light and the species of host plant control the effectiveness of any given culture.

Table 23. Showing the Variations in the Effectiveness of Different Strains of Nodule Bacteria of the Cowpea Group on Different Species of Host Plants.
Grown for 2½ months. (Approx.) Average for Different Seasons.
(Per 10 Plants.)

Treatment	Red Gram			Green Gram			Horse Gram		
	Dry Matter g.	N. %	Total N. mg.	Dry Matter g.	N. %	Total N. mg.	Dry Matter g.	N. %	Total N. mg.
Control	3.04	1.039	31.59	1.13	1.008	10.84	2.23	0.986	21.73
Cowpea 600 . .	5.40	2.250	115.56	1.34	1.138	15.42	3.30	1.913	65.84
Cowpea 602 . .	5.21	2.177	109.11	3.86	1.583	62.60	3.73	2.211	80.04
Dew Gram 34 .	3.21	1.126	36.33	3.27	1.675	55.05	3.29	1.756	58.27
Mat bean . . .	4.60	1.935	89.58	3.91	1.625	62.66	4.02	3.094	84.43
Black Gram 2 .	4.35	1.367	62.62	3.17	1.636	50.68	3.78	1.611	71.75
Black Gram 1 .	3.86	1.317	52.05	3.17	1.578	49.78	3.82	1.822	69.68
Mung	4.36	2.026	87.00	3.89	1.608	64.09	3.47	2.065	70.95
Horse Gram 1 .	4.99	1.857	92.67	3.81	1.510	57.54	4.14	1.899	78.64
Red Gram 39. .	4.99	1.753	87.47	3.36	1.468	49.31	3.64	1.820	66.24
Lablab	4.54	1.902	86.34	4.22	1.561	65.86	3.97	1.836	72.90
Red Gram 1 . .	3.01	1.813	54.56	2.21	1.928	42.61	1.67	2.370	39.57
Red Gram 2 . .	2.93	1.592	46.64	—	—	—	—	—	—

In the red gram plants greater synthesis of dry matter and fixation of nitrogen were obtained. In the green gram plants gereater benefit was derieved by inoculation over the controls, while in horse gram greater percentage of nitrogen was recorded.

Bengal Gram, Gram or Chick pea (Cicer arietinum, Linn.).

As the 'Desi' variety of bengal gram is more extensively grown in India, experiments were first started with this variety to the effectiveness of different strains of nodule bacteria of the Cicer bacterial-plant group during the seasons corresponding to the first and the second ones mentioned already.

The results of experiments conducted during the first and the third seasons given in Tables 24 to 27 were studied together, and those of the second season embodied in Table 28 were considered separately.

Table 24. Showing the Effectiveness of Different Strains of Nodule Bacteria of the Cicer Group on Bengal Gram Plants.
Sown on March 11, '32. Harvested on May 10, '32. (Age 8 weeks.)
420 hrs. Sun-shine, Solar rad. 238,000 g. cal. per sq. cm. (570 per hr.)
(Yield per ten plants.)

Treatment	Shoots Av. Height Inches	Yield		Remarks
		Dry Matter g.	Total N. mg.	
Control	6.0	2.99	53.04	Plants in pods' stage.
Gram 1	9.0	5.33	86.56	Plants bearing pods; nodules: size big, only few.
Gram 2	7.5	4.93	84.97	Plants bearing pods; nodules: good, fresh ones forming.
Cicer 67	6.0	3.53	69.14	Plants uneven in height, bearing pods; nodules: poor in formation.

Table 25. Showing the Effectiveness of Different Strains of Nodule Bacteria of the Cicer Group on Bengal Gram Plants.

Sown on May 13, '32. Harvested on July 16, '32. (Age 8½ weeks.)
678 hrs. Sun-shine, Solar rad. 335,500 g. cal. per sq. cm. (496 per hr.)
(Yield per ten plants.)

Treatment	Shoots Av. Height Inches	Yield Dry Matter g.	Yield Total N. mg.	Remarks
Control	7.0	2.65	44.05	Plants uniform.
Gram 1	8.5	3.51	61.05	Plants uneven; nodules: good, shape oval and long, few.
Gram 2	8.5	4.04	76.68	Nodules: shape oval.
Cicer 67	9.0	4.10	83.31	—

Table 26. Showing the Variations in the Production of Dry Matter and Nitrogen Content of Different Parts of Bengal Gram Plants Treated with Different Cultures.

Sown on March 11, '32. Harvested on May 10, '32. (Age 8 weeks.)
420 hrs. Sun-shine, Solar rad. 238,000 g. cal. per sq. cm. (570 per hr.)
Per ten plants.

Treatment	Roots Dry Matter g.	Roots N. %	Roots Total N. mg.	Shoots Dry Matter g.	Shoots N. %	Shoots Total N. mg.	Whole Plant Dry Matter g.	Whole Plant N. %	Whole Plant Total N. mg.
Control	1.08	1.362	14.71	1.91	2.007	38.33	2.99	1.774	53.04
Gram 1	1.71	1.266	21.65	3.62	1.793	64.91	5.33	1.624	86.56
Gram 2	1.56	1.226	19.12	3.37	1.954	65.84	4.95	1.724	84.97
Cicer 67	1.23	1.582	19.46	2.30	2.160	49.68	3.53	1.958	69.14

Table 27. Showing the Variations in the Production of Dry Matter and Nitrogen Content of Different Parts of Bengal Gram Plants Treated with Different Cultures.

Sown on May 13, '32. Harvested on July 16, '32. (Age 8½ weeks.)
678 hrs. Sun-shine, Solar rad. 335,500 g. cal. per sq. cm. (496 per hr.)

Treatment	Roots Dry Matter g.	Roots N. %	Roots Total N. mg.	Shoots Dry Matter g.	Shoots N. %	Shoots Total N. mg.	Whole Plant Dry Matter g.	Whole Plant N. %	Whole Plant Total N. mg.
Control	1.16	1.758	26.51	1.49	1.647	24.54	2.65	1.700	45.05
Gram 1	1.00	1.137	11.37	2.51	1.979	49.68	3.51	1.739	61.05
Gram 2	1.37	1.385	18.98	2.67	2.161	57.70	4.04	1.898	76.68
Cicer 67	0.98	1.487	14.57	3.12	2.203	68.74	4.10	2.032	83.31

It will be seen that in the third season the hours of sunshine increased by about 61% and the intensity decreased by 13% of what they were in the first season.

The nitrogen fixed by the culture, Cicer 67, was increased during the third season, and so did its dry weight. With the cultures, Gram I and Gram II, a lowering in these quantitatives was observed under the same conditions, and of the two, this lowering was more sharp with the former.

Table 28. Showing the Effectiveness of Different Strains of Nodule Bacteria of the Cicer Group on Bengal Gram (Desi).
Sown on April 10, '32. Harvested on June 18, '32. (Age 9 weeks.)
606 hrs. Sun-shine, Solar rad. 328,000 g. cal. per sq. cm. (540 per hr.)
(Yield per ten plants.)

Treatment	Shoots Av. Height Inches	Dry Matter g.	Diff. %	Per-centage Nitrogen	Diff. %	Total Nitrogen mg.	Diff. %
Control	9.5	0.95	—	1.537	—	14.60	—
Gram 1	12.5	1.72	81	0.839	— 45	14.43	— 12
Gram 2	9.0	2.92	208	1.117	— 27	32.67	124
Cicer 67	11.5	2.48	172	1.035	— 32	25.67	76

Taken by itself, even Gram 1 is fairly effective. But when the light intensity was more as obtained during the first season, Gram 1 and Gram 2, were decidedly superior to the culture 67. These observations suggest, that when conditions of light similar to those obtained in the locality from which these strains were isolated were given, the cultures tend to prove considerably more effective, since the cultures, Gram 1 and Gram 2, were isolated from soils obtained from India; whereas; Cicer 67 was isolated from the soils obtained from Washington, D. C. But this does not exclude the possibility for a culture to get acclimatised to the new environment.

The culture, Gram 2, formed good nodules, while Cicer 67 was poor during the first season. There was no material difference in the type of nodules produced by these cultures in the third season.

There was not much difference in the colour of the leaves in different treatments, as all the three cultures appear to be fairly effective on this plant.

The height, the dry weight and the total nitrogen of the shoots increased with an increase in the effectiveness of the cultures.

The reaction of the root was the same as in the previous crops when inoculated with efficient cultures.

The data presented above show that the culture, Gram 2, was the most effective of the three for the production of dry matter and total nitrogen, while the culture, Gram 1, was the least effective.

The percentage of nitrogen decreased in all the inoculated plants and the magnitude of this decrease was more in the culture, Gram 1.

'Kabuli' variety.

The seeds of the 'Kabuli' variety available in the grocery stores at Madison, Wisconsin, were used and the experiments were conducted twice during the seasons corresponding to the third and the fourth ones mentioned earlier.

The results of the above experiments are reported in Tables 29—32.

The data show that in general, the crop grew better during the second season than in the first. Of the two seasons tried, in the second one the light intensity was less by 67% and the duration of sunshine was lowered by 37%. This 'Kabuli' variety of gram is known to thrive well in localities where the intensity of light is less. This evidently explains the better growth during the second season.

Table 29. Showing the Effectiveness of Different Strains of Nodule Bacteria of the Cicer Group on Bengal Gram Plants.

Sown on June 23, '32. Harvested on Sept. 5, '32. (Age 9½ weeks.)
794 hrs. Sun-shine, Solar rad. 345,500 g. cal. per sq. cm. (435 per hr.)
(Yield per ten plants.)

Treatment	Shoots Av. Height Inches	Yield Dry Matter g.	Yield Total N. mg.	Remarks
Control	28.0	5.92	122.22	Plants in flowering and fruiting stage.
Gram 1	27.0	5.90	113.86	Plants in flowering stage, a few in fruiting stage also; nodules: few, shape oval and long.
Gram 2	25.0	8.38	167.22	Plants in flowering and fruiting stage are equal in number to those which are not; nodules: shape oval.
Cicer 67	26.0	10.11	189.69	Only a few plants in flowers and fruits; nodules: few.

Table 30. Showing the Effectiveness of Different Strains of Nodule Bacteria of the Cicer Group on Bengal Gram Plants.

Sown on Aug. 17, '32. Harvested on Oct. 16, '32. (Age 8 weeks.)
512 hrs. Sun-shine, Solar rad. 73,500 g. cal. per sq. cm. (143 per hr.)
(Yield per ten plants.)

Treatment	Shoots Av. Height Inches	Roots Av. Length Inches	Yield Dry Matter g.	Yield Total N. mg.	Remarks
Control . .	26.5	5.5	9.31	191.98	—
Gram 1 . .	27.0	5.5	10.26	195.27	Nodules: size big, but few, on side roots.
Gram 2 . .	27.0	7.0	8.96	183.57	Nodules: good, on side roots.
Cicer 67 . .	28.0	7.5	9.10	202.00	Nodules: good, on side roots.

Table 31. Showing the Variations in the Production of Dry Matter and Nitrogen Content of Different Parts of Bengal Gram Plants Treated with Different Cultures.

Sown on June 23, '32. Harvested on Sept. 5, '32. (Age 9½ weeks.)
794 hrs. Sun-shine, Solar rad. 345,500 g. cal. per sq. cm. (435 per hr.)
Per ten plants.

Treatment	Roots Dry Matter g.	Roots N. %	Roots Total N. mg.	Stems Dry Matter g.	Stems N. %	Stems Total N. mg.	Leaves Dry Matter g.	Leaves N. %	Leaves Total N. mg.
Control	1.67	1.719	18.45	2.37	1.437	34.05	1.85	3.144	58.17
Gram 1	1.98	1.514	29.98	2.29	1.408	32.23	1.63	3.169	51.65
Gram 2	2.44	1.409	34.39	3.31	1.375	45.51	2.63	3.320	87.32
Cicer 67	3.21	1.359	43.62	3.94	1.298	51.14	2.96	3.207	94.83

Table 32. Showing the Variations in the Production of Dry Matter and Nitrogen Content of Different Parts of Bengal Gram Plants Treated with Different Cultures.
Sown on Aug. 17, '32. Harvested on Oct. 16, '32. (Age 8 weeks.)
512 hrs. Sun-shine, Solar rad. 73,500 g. cal. per sq. cm. (143 per hr.)
Per ten plants.

Treatment	Roots			Stems			Leaves		
	Dry Matter g.	N. %	Total N. mg.	Dry Matter g.	N. %	Total N. mg.	Dry Matter g.	N. %	Total N. mg.
Control	3.05	1.915	58.41	3.65	1.231	44.94	2.61	3.396	88.63
Gram 1	3.16	1.393	44.03	3.50	1.147	40.14	3.60	3.086	111.10
Gram 2	2.88	1.596	45.97	3.54	1.335	47.26	2.54	3.557	90.34
Cicer 67	2.97	1.995	59.27	3.40	1.275	43.35	2.73	3.640	99.38

So far as the dry matter production is concerned, it may be noted that the culture, Gram I, was more efficient under deficiency of light, while the culture, Cicer 67, was better when higher intensity of light prevailed.

In the second season, the amount of total nitrogen in the plants including the controls was higher than that observed in the first season.

The increase in the total nitrogen content of the inoculated plants over the control was less in the second season than in the first season; thereby showing that deficiency of light had an adverse effect on the effectiveness of all the cultures of this group also.

The culture, Cicer 67, was the most effective one in both the seasons.

The colour of the leaves in all cases was almost uniformly green in both the seasons and the shoots were also almost of the same height throughout. The percentage distribution of dry matter in the stems was greater than that present either in the leaves or in the roots and the controls contained the maximum distribution of total nitrogen. The differences were more conspicuous in the last test when light was deficient.

There was no correlation between the length of the roots and the effectiveness of the cultures as observed in the studies of the Cowpea group. The percentage distribution of dry matter in the roots was highest when inoculated with the most effective culture like Cicer 67 during the first season and lowest in the controls, unlike what was observed in the plants of the Cowpea group.

The variations in the type of nodules produced were narrower in this crop unlike those observed in the 'Desi' variety of bengal gram.

Discussion.

It was observed in all cases that with a fall in the intensity and the duration of light, the effectiveness of all cultures generally decreased (3, 5, 7, 18) but the magnitude of this decrease varied with the nature of the strain. For example, although the cultures, Cowpea 600, Cowpea 602, Black Gram 2, Mung, etc. were very effective during the first season on the red gram plants, each fixing more than 100 mgs. of nitrogen per 10 plants, with the advent of unfavourable conditions of light during the subsequent seasons the fall in the effectiveness was considerably sharp in the case of Black Gram 2 and Mung than in the Cowpea 600 and Cowpea 602 treatments. This suggests that the photosynthetic activity in the host plant under defi-

cient conditions of light prevailing in the last three seasons was far below the optimum requirements for the cultures like Black Gram 2 and Mung to function efficiently than for the cultures like Cowpea 600 and Cowpea 602.

Further, it was observed that in the red gram and horse gram plants treated with some cultures, the leaves were pale in the initial stages and they attained healthy green colour as they advanced in age, the latter varying from culture to culture. In this respect, Cowpea 600 stood in striking contrast on red gram. The leaves of the plants inoculated with it were healthy and green throughout and in all the seasons. This shows that in cultures like Black Gram 2, etc., their minimum energy requirements through the photosynthetic activity of the host (Red gram) to function efficiently, could not be met earlier than the lag period observed ineach case, when, the accumulated photosynthesates must have attained the level above the minimum. But in the case of the culture, Cowpea 600 on red gram it looks as though that this minimum is of a lower order, such that it could be attained quickly to enable it to function well under all conditions prevailing under the conditions of these experiments.

From this, it may be expected that under extremely deficient light conditions as were obtained in the fifth season, when the rate of photosynthesis was at its lowest, cultures like Black Gram 2, might be more parasitic on their host plants (Red gram) for the photosynthetic material, such that the total dry matter production may be considerably lowered. The data of dry matter produced in the inoculated plants in this season show that they were below that in the control. But, this decrease varied from culture to culture depending, probably, on the energy requirements of the culture concerned. It was greater when the plants were inoculated with Black Gram 2, Red Gram 2, than those treated with Cowpea 600.

It will be seen that cultures which fixed more nitrogen did not also produce more dry matter in their host plants than those which fixed less nitrogen. The data further show that cultures which fixed equal amounts of nitrogen produced widely varying amounts of dry matter. These apparently conflicting observations are, probably (a) partly due to a rapid depletion of the carbohydrate reserve of the host plant,

(I) through increased respiration consequent on increased fixation of nitrogen (7),

(II) in the synthesis of varying amounts of protein and other forms of organic nitrogenous compounds carried excessively (12), and

(III) the differential utilization of energy by different strains of nodule baeteria for their growth as discussed already;

(b) Partly due to the differential capacity of the cultures in supplying nitrogen fit for its economic utilisation by the host plant, although, it must be said that no direct evidence is available in this respect, and

(c) partly due to the lowered photosynthetic activity consequent on the increased fixation of nitrogen (9).

The length of the roots in the first season with those in those in the fourth season, the former were shorter in all cases (Cowpea group). In the first season, the duration and the intensity of light were thrice that in the fourth season, and further, the age of the red gram plants was also more than double. Even in spite of these favourable conditions the roots were shorter. The length of the roots in the third season when the light conditions were comparatively better were shorter than in the fourth season. These

appear to confirm the observations of Garner and Allard (8) that deficiency of light favours the root development rather than shoots.

Under favourable light conditions, the increase in the dry weight of the shoots over that in the roots was observed to be far greater when inoculated with efficient cultures. In these cases the number of leaves were far greater and their size considerably bigger. Similar observations were also recorded by others (9, 11, 12, 17) in their studies on non-leguminous plants with different doses of combined nitrogen.

In general, the intensity of greenish colour of the leaves served as an index of the effectiveness of any strain of nodule bacteria on red gram and to some extent on horse gram plants also; whereas, they were not perceptable in bengal gram plants. When the solar radiation was deficient, the differences in the green colour of the leaves was less marked.

In horse gram and green gram, the total nitrogen in the stems increased despite fall in solar radiation, but the dry matter in them more tend to remain constant than to increase. Simultaneously with this, there was observed a fall in the nitrogen content of the leaves. It may be mentioned here that both green gram and horse gram are short day crops, compared with red gram, and perhaps due to this, in both of them a tendency for flowering was noted during this season when the conditions of light were poor. Armstrong and Albert (loc. cit.) observed a similar fall in the nitrogen content of the leaves of the cotton plant between the time of flowering and setting of the fruit, and during this period, the nitrogen content of the stalks was increasing. The nitrogen is evidently migrating from the leaves to the floral regions via the stem during flowering period.

Although red gram, green gram and horse gram belong to the Cowpea bacterial-plant group, the strain which was effective on one species of the host plant was not equally effective on the other two. For example, the culture Cowpea 600 which is most effective on red gram was least effective on green gram; whereas, the reverse was the case with the culture Dew gram 34. Both these cultures were less effective on horse gram. On the other hand, cultures like Cowpea 602, etc., were uniformly effective on all the three host plants. This shows the existence of characteristic variations in the host specificity between different varieties of host plant and the strain of nodule bacteria.

A greater synthesis of dry matter and fixation of nitrogen were observed in red gram plants than in the rest when the same set of cultures were used for inoculation.

The response due to inoculation was greater in the 'Desi' variety of bengal gram than in the 'Kabuli' variety. It may be mentioned here that the size of the seeds is bigger in the latter and total nitrogen content of equal number of seeds is nearly four times that of the former. Probably, the high protein reserve contained in the seeds of the 'Kabuli' variety is an impediment for an efficient and higher fixation of atmospheric nitrogen by the root nodula bacteria. There is ample evidence to show that the root nodule bacteria could not produce nodules if higher doses of combined nitrogen was supplied to its host plant (4).

In the second season, when the conditions of light were poorer, the total nitrogen content of the 'Kabuli' variety of plants including the controls was higher than that observed in the first season when the intensity of light was thrice and the duration of sunshine was 50% greater than those prevailing

during the second season. This is partially explainable as being due to the reduced loss of dry matter and nitrogen during the process of germination and development in the young seedlings under lower intensity and duration of sunlight as pointed out by Tottingham (17). A similar observation was made in the case of the Hawaiian variety of red gram, the seeds of which were also big and contained greater amount of total nitrogen, although the conditions of light were not identical.

Summary.

Experiments were conducted during different seasons to test:

(1) The effectiveness of different strains of nodule bacteria of the Cowpea and Cicer bacterial-plant groups on red gram, green gram, horse gram and bengal gram plants, and

(2) the influence of the natural variations in the solar radiation which are considerably wide at Madison, Wisconsin, U. S. A. on the effectiveness of different strains of nodule bacteria.

The following observations were made:

(1) The variety of host plant profoundly influences the effectiveness of many of the strains of nodule bacteria.

(2) The type of nodulation and the size of the nodules seem to remain unaffected by the variations in the conditions of light, but deficient light, however, tends to decrease their numbers.

(3) While the type of nodulation is a definite character of the culture it does not, however, seem to be a reliable index of its effectiveness, unlike what was observed by previous workers in the Pea group.

(4) Four new types of nodulation were observed to be produced by the inefficient cultures of the group.

(5) The type of nodules produced by the culture Mat bean, the most efficient one on horse gram plants, approach the description of the type of nodulation produced by an inefficient culture of the Pea group given by Helz, Baldwin, and Fred (loc. cit.).

(6) The intensity and the duration of sunlight are important factors which control the magnitude of the effectiveness of a culture, and the production of dry matter. They cannot, however, alter the inherent capacity of the strains of the nodule bacteria in fixing atmospheric nitrogen.

(7) There are indications suggesting that some cultures under extremely deficient conditions of light tend to deplete the organic matter produced by their host plants.

(8) Different strains of nodule bacteria possess varying, but characteristic capacities for increasing the dry matter and fixing the atmospheric nitrogen in their host plants.

(9) The production of dry matter and the fixation of nitrogen did not appear to go hand in hand. An explanation was offered to reconcile these conflicting observations.

(10) The benefit of inoculation is reflected first and the most in the leaves, and then in the stem and last of all in the roots, and it is all the greater when the light conditions are more favourable.

(11) The dry weight and the total nitrogen content of the leaves gave a fair index of the nitrogen fixing capacity of the bacterial strain.

(12) The depth of the green colour of the leaves, especially in red gram and horse gram, appears to have a positive correlation with the effectiveness

of a culture; suggesting thereby, the colour of the leaves of the host plant might serve as a fairly reliable qualitative index of the latter. In the case of bengel gram, however, no clear cut differences could be observed between treatments.

(13) The leaves of the red gram and the horse gram plants treated with some cultures during the winter season, remained pale for a long period in their initial stages of growth, and only after a lapse of a certain period they commenced to turn green and healthy. This lag period varied widely, depending upon the nature of the culture, probably with its energy requirements and the conditions of light prevalent during that season.

(14) The height of the shoots of plants of the Gowpea group increased on inoculation, but this increase does not appear to bear any relationship what so ever with the effectiveness of the culture. They possessed a negative correlation with the intensity and the duration of solar radiation.

(15) The variations in the length of the roots appear to be somewhat erratic, but it tends to increase with a decrease in the conditions of light.

(16) For red gram, cultures Cowpea 600 and Cowpea 602, are the best, while the cultures, Horse Gram I and Mat bean seem to be promising. For green gram, cultures, Mat bean, Mung, Dew Gram, Lablab and Red Gram I, seem to be suitable for inoculation; the last mentioned culture was promising even under deficient light conditions, while for the horse gram plants, Mat bean was the most efficient culture of the series and the culture, Red Gram 39, was promising. Among the cultures of the Cicer group, Gram II. was most effective on the 'Desi' variety of bengal gram, while Cicer 67 was the best on the 'Kabuli' variety.

(17) In green gram plants, even under deficiency of light, in all cases, the ratio of the tops to the roots was greater than unity, unlike what was seen in the red gram plants.

(18) Under almost identical conditions, the red gram plants are most efficient in producing the maximum dry weight and contain the largest amount of total nitrogen, the horse gram plants contained the maximum percentage of nitrogen and in the case of green gram plants the maximum percentage increase of dry matter and total nitrogen was obtained in favour of inoculation.

Bibliography.

1. Armstrong, G. M., and Albert, W. B., Journ. Agri. Res. Vol. 42. 1931. p. 789—803. — 2. Dixit, P. D., Indian Journ. Agri. Sci. Vol. 2. 1932. p. 385—390. — 3. Eaton, S. V., Bot. Gaz. Vol. 150. 1931. p. 113—143. — 4. Fred, E. B., Baldwin, I. L., and McCoy, E., Univ. Wis. Studies Sci. Ser. No. 5. 1932. p. 1—343. — 5. Fred, E. B., and Wilson, P. W., Proc. Nat. Acad. Sci. Vol. 20. 1934. p. 403—409. — 6. Howard, A., Howard, G. L. C., and Khan, A. R., Mem. Deot. Agri. India. Bot. Ser. Vol. 7. 1914. p. 213—235. — 7. Orcutt, F. S., and Fred, E. B., Journ. Amer. Soc. Agron. Vol. 27. 1935. p. 550—558. — 8. Garner, W. W., and Allard, H. A., Journ. Agri. Res. Vol. 32. 1923. p. 871—920. — 9. Hammer, K. C., Bot. Gaz. Vol. 97. 1936. p. 744—764. — 10. Helz, C. E., Baldwin, I. L., and Fred, E. B., Journ. Agri. Res. Vol. 35. 1927. p. 1039—1055. — 11. Miller, E. C., Plant Physiology, McGraw-Hill, New York 1931. — 12. Nightingale, G. T., Bot. Review. Vol. 3. 1937. p. 85—174. — 13. Raju, M. S., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 94. 1936. S. 249—262. — 14. Raju, M. S., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 94. 1936. S. 338—348. — 15. Raju, M. S., Proc. Assoc. Econ. Biol. (C. B. E.) Vol. 4. 1937. p. 24—32. — 16. Raju, M. S., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 99. 1938. S. 133—141. — 17. Tottingham, W. E., Plant Biochemistry. 1934. p. 1—219. — 18. Wilson, P. W., Wis. Res. Bul. No. 129. 1935.

Nachdruck verboten.

Note on the Successive Dilution Method for Estimating Bacterial Populations.

[From the Scripps Institution of Oceanography. La Jolla, California, U.S.A.]

By **R. D. Gordon** and **Claude E. ZoBell.**

With 2 figures in the text.

In their review of the literature of the subject Halvorson and Ziegler (1) point out that the successive or minimum dilution method has been quite widely used as a means of evaluating bacterial densities. Essentially the method consists of diluting the material to be examined successively in a convenient ratio, and innoculating 1 ml. portions of each dilution into appropriate nutrient medium. The simplest procedure is then to take the reciprocal of the highest dilution which shows growth as an estimate of the density of "viable" bacteria in the original material. This really gives the least number of bacteria which could be expected to perform thus, and is therefore in general too low. Accordingly some suggestions have appeared for elaborating the method of estimation (2), culminating in the tables of Halvorson and Ziegler (3). Gordon (4), however, has shown their method not to be appropriate for this type of problem. The purpose of this note is to exhibit experimental corroboration of Gordon's theoretical conclusions.

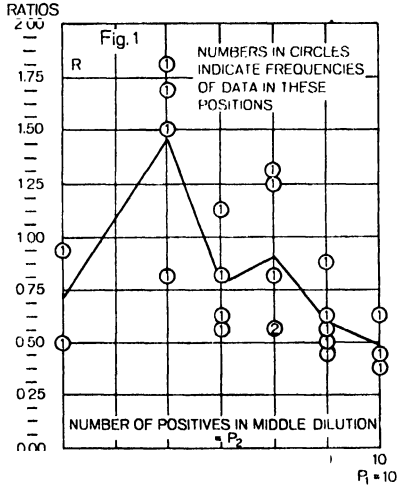
Halvorson and Ziegler (3) assume a standard procedure of making three successive ten-fold dilutions of the material to be tested, and inoculating each dilution into ten test tubes containing nutrient medium, each tube receiving 1 ml. of the material thus diluted; so that thirty tubes are used for each determination. Suppose p_1 tubes show growth out of the ten inoculated with the lowest dilution (highest concentration), p_2 out of ten show growth in the middle dilution, and p_3 in the highest dilution. The probability of this (compound) "event" can be computed in terms of the actual mean density of bacteria in the original material, and the Bayes-Laplace formula ("inverse probability") then determines the probability that this "event" is the result of any particular value of the density (assuming uniform "prior probability"). Halvorson and Ziegler now take the mode of this probability as an estimate of the actual density. This is the value of the density which has the greatest individual probability. Values of this estimate are tabulated in their publication (3) corresponding to various values of p_1, p_2, and p_3.

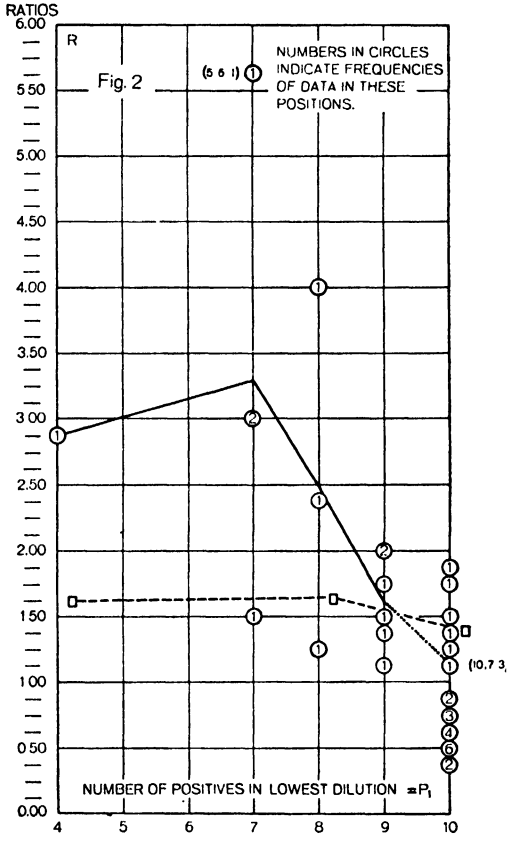
A series of comparisons of direct plate counts with corresponding estimates taken from Halvorson and Ziegler's tables, has been made in this laboratory. The results are represented in the accompanying figures, in which the ordinates are the ratios of plate counts to corresponding estimates of Halvorson and Ziegler. Inspection of Figure 2 shows immediately a total range of almost ten-fold, even leaving out of account the excessively high ratio 5.61 corresponding to $p_1 = 7$. Thus estimates made with these tables do not show very close agreement with results of the standard method of plate-counting.

In Figure 1, those ratios corresponding to which $p_1 = 10$ are shown segregated according to values of p_2. In Figure 2 all the data are shown

segregated according to values of p_1. p_3 is not taken into account because of lack of adequate data. The points are seen to arrange themselves in rather similar fashion in both figures, and show moderately distinct trends with variations in p_1 and p_2. The full lines indicate the positions of the arithmetic means of the different groups of data, corresponding to values of p_2 and p_1, thus showing the courses of these "trends". (The dotted line on the right of Figure 2, however, runs to a datum (10, 7, 3) which corresponds to an actual computation described below, and not to the mean for $p_1 = 10$.) It is apparent that the two methods of measuring bacterial densities are not in statistical agreement.

Confronted with this state of affairs, Gordon (4) examined the problem and concluded that these disagreements might be explained by variations in the "skewness" of the posterior ("inverse") distributions. Since bacterial densities are actually set down as three figure numbers (as are also the estimates tabulated by Halvorson and Ziegler), it appeared that the most reasonable simple type of estimate to fit the general requirements should be the geometric mean. Accordingly formulas were developed for computing the geometric means from the p_i's. The squares (joined by the dash lines) in Figure 2 represent ratios of three such computations to corresponding estimates from Halvorson and Ziegler's tables, multiplied by 1.50 to bring them more nearly into the main body of experimental data. This multiplication by 1.50 is justified on the assumption that the bacteria from which our data arose found better growing conditions on the plates than in the test tubes. This is not generally the case, but it appears to be true in the present instance. [The squares represent the following computed ratios: 1.075 corresponding to values (4, 2, 1) of the p_i's; 1.09 corresponding to (8, 5, 1), and 0.93 corresponding to (10, 7, 3).]





It is evident that these computed squares follow a trend very similar to, though not so pronounced as, that of the experimental data. They indicate that the skewness of the posterior distributions does vary with the values of the p_i's, as postulated above; and it is quite probable that more computations would show greater divergences from the modal estimates of Halvorson and Ziegler than those shown by these three, in better agreement with the experimental data.

Part of the "trend" shown by the experimental data may be due to a correlation of counting efficiency with numbers of bacteria on the plates, the counter perhaps missing some of the colonies when the plates are densely covered; but the trends shown in Figure 1 can hardly be explained on this basis.

These findings corroborate the conclusions arrived at on theoretical grounds by Gordon (4), that the mode is not the correct estimate for this problem, and its use gives rise to systematic errors due to variations of the skewness of the posterior distributions. The use of the modal (Halvorson and Ziegler's) estimates, in a study involving correlation of bacterial densities with some other variable, might very well account for non-significance or significance of the correlation coefficient when the reverse is true and would appear with proper methods, and coefficients of regression at least would be wrongly estimated. The correct (simple) estimate for most bacteriological purposes is the geometric mean, for the reasons indicated above.

The purposes of this note are adequately met by the two figures presented, and we therefore consider it unnecessary to present the corresponding numerical data at this time. We contemplate carrying out a more thorough and systematic series of comparisons in the future, at which time the complete data will be presented.

We also anticipate the computation of a complete set of tables of geometric mean estimates. Such a set will be necessary both to compare with plate counts, and to make the method of successive dilutions truly dependable and valuable as an implement of research.

Summary.

Experimental data are arranged graphically so as to corroborate the conclusion, arrived at on theoretical grounds by Gordon (4), that modal estimates of bacterial densities, based on successive dilution procedure, are not satisfactory for bacteriological purposes. The geometric mean is proposed as the correct (simple) estimate. In order to make the successive dilution technique a satisfactory instrument of research it will be necessary to replace the tables of Halvorson and Ziegler (3) with tables of geometric mean estimates, for which formulas have been developed by Gordon (4).

References.

1. Halvorson, H.O., and Ziegler, N.R., A means of determining bacterial population by the dilution method. — 2. Cf. for instance Wells, P. V., and Wells, W. F., On the dilution method of counting bacteria. (Journ. of Wash. Acad. Sci. Vol. 11. No. 12, June, 1921. p. 265—273.) See also next reference. — 3. Halvorson and Ziegler, Quantitative Bacteriology. Minneapolis, Minnesota (Burgess Publishing Co.) 1933. — 4. Gordon, R. D., Note on estimating bacterial populations by the dilution method. (Proc. Nat. Acad. Sci. Vol. 24. No. 5. May, 1938. p. 212—215.)

Nachdruck verboten.

Über parasitische Mutterkornkulturversuche.

[Mitteilung der königlich-ungarischen Heilpflanzenversuchsstation, Budapest.]

Von **Nikolaus v. Békésy.**

Mit 8 Abbildungen im Text.

Um den Mangel an Mutterkorn im Drogenhandel zu beseitigen, können wir saprophytische und parasitische Mutterkornkulturen anlegen.

Es gelang schon B. Meyer (16) und Brefeld (3) Mutterkorn saprophytisch zu kultivieren. Sie beschäftigten sich jedoch hauptsächlich mit den biologischen Fragen des Mutterkorns. Bei den späteren Arbeiten befaßten sich ferner Engelke (6) und Kirchhoff (12) mit der künstlichen Erzeugung von saprophytischen Sklerotien. Dies ist zum Teil auch gelungen und so konnte man das Hauptgewicht auf den Alkaloidgehalt der Kulturen legen, da derselbe früher noch nicht untersucht wurde. McCrea (15), Kreitmair und Küssner (14) und Jaretzky (11) machten solche Untersuchungen. Sie fanden Alkaloide auch in Kulturen, in denen sich kein Sklerotium bildete. Hauptsächlich McCrea untersuchte weitgehend den Einfluß von verschiedenen Faktoren auf die saprophytische Kultur. Gegenwärtig hoffen wir, auf technischem Wege mit saprophytisch kultiviertem Mutterkorn das parasitierende ersetzen zu können, jedoch ist die saprophytische Mutterkornkultur noch nicht so weit entwickelt, daß wir die weiteren Untersuchungen der parasitischen Kultur aufgeben sollten. Die parasitischen Kulturen besitzen mehrere Vorteile. Smith und Timmis (17) haben darauf hingewiesen, daß die klimatischen Verhältnisse in engem Zusammenhang mit der Qualität des Mutterkornes stehen. Sie fanden im spanischen, portugiesischen, russischen, polnischen, skandinavischen und ungarischen Mutterkorn hauptsächlich Ergotoxin und Ergotinin, hingegen im neuseeländer Mutterkorn hauptsächlich Ergotaminin und Ergotamin; es ist zu bemerken, daß letzteres auf Festuca gewachsen ist. Sensibamin (15) konnte ebenfalls betriebsmäßig nur aus ungarischem Mutterkorn hergestellt werden; nur kleine Mengen waren in polnischem Mutterkorn nachweisbar. Auch die Rentabilität spricht zugunsten der parasitischen Kultur, weiter auch der Vorteil, daß das parasitische Mutterkorn als eine sehr geschätzte Droge im Handel stark gesucht ist.

Über frühere parasitische Mutterkornkulturversuche.

Der Gedanke Mutterkorn parasitisch zu kultivieren, ist ziemlich alt. Am Ende des vorigen Jahrhunderts wurden mehrmals diesbezüglich Anfragen an Fachleute gerichtet. Nach der damaligen Auffassung konnte eine solche Kultur nicht nur die Kornernte, sondern auch die Gesundheit der Einwohner gefährden, weshalb solche Versuche prinzipiell abgelehnt wurden. Nach den Arbeiten von Stäger (18), in denen das Mutterkorn in mehrere biologische Formen geteilt wird, minderte sich die Angst vor der Verseuchungsgefahr, da ja nicht jedes auf Gras parasitierende Mutterkorn identisch ist mit dem Mutterkorn des Roggens. Hecke (8) ist der erste, der sich mit der Mutterkornkultur beschäftigt und erfahrungsgemäß die Gefahr einer starken Verseuchung ablehnt.

Die Versuche von Hecke befolgen praktische Gesichtspunkte. Er beschäftigt sich mit der Herstellung des Impfmaterials und empfiehlt Askosporen und das Anlegen von saprophytischen Kulturen. Zur Infektion mit Askosporen verwendet er die Methode von Falk (7). Es werden danach die Roggenähren vor dem Aufblühen in ein geschlossenes Glasrohr gebracht. Zu diesen Ähren werden reife Fruchtkörper tragende Sklerotien gelegt, wobei das Ausschleudern der Askosporen durch die Bestrahlungswärme der Sonne

erreicht wurde. Die Blüten, die sich im Glasrohr öffneten, wurden durch diese Askosporen reichlich infiziert. Ungefähr 8 Tage nach der Infektion erschienen die Honigtautröpfchen, die zur weiteren Infektion verwendet wurden. Um den Honigtau frühzeitig zu gewinnen, wurde vorgetriebener Roggen infiziert. Zu diesem Zweck wurde der Roggen in Töpfen kultiviert, diese wurden dann beim Erscheinen der Ähren im Glashaus vorgetrieben. Den Honigtau hatte man mit Papierstreifen gesammelt, die man trocken aufbewahrte. Dieser eingetrocknete Honigtau wurde durch Verdünnung verwendbar. Hecke infizierte auch mit Konidien, die er von einer saprophytischen Kultur gewann. Zu diesem Zweck benutzte er ungehopfte Bierwürze, zum Teil in flüssigem Zustande, zum Teil mit Gelatine versetzt als festen Nährboden. Die Infektion des Roggens geschah, indem man die offenen Blüten mit einer Konidienaufschwemmung besprengte. Günstige Infektion wurde nur erzielt, wenn bei der Infektion möglichst viele Blüten offen waren. Um das zu erreichen, suchten Hecke (10) und Tschermack (20) nach jenen Möglichkeiten, die einerseits das Aufblühen des Roggens befördern, anderseits die Blütezeit verlängern.

Nach einer Beobachtung von Tschermack (21) gelingt es, Blüten, die kurz vor dem Aufblühen stehen, durch gelinden Druck zu öffnen. Dabei wird so verfahren, daß ein Büschel Ähren beim Halm gefaßt und mehrmals unter kräftigem Druck durch die Hand gezogen wird. Bei den späteren Versuchen zeigte es sich, daß es genügte, wenn die Ähren mit einem Stabe mehrmals niedergeneigt und so abgestreift wurden. Nach dieser Behandlung war es nötig, die Ähren sofort mit einer Konidiensuspension zu besprengen, da die Blüten nur so lange offen blieben, also sie nicht bestäubt waren. Diese Behandlung muß mehrmals täglich während der ganzen Blütezeit wiederholt werden; der Erfolg hing außerdem von windstillem, schönem Wetter ab.

Eine zweite Möglichkeit, um viele offene Blüten zu erhalten, bestand darin, daß man die Befruchtung verhinderte. Unbefruchtete Blüten bleiben bekanntlich oft wochenlang gespreizt offen. Hecke (9) hatte sehr gute Erfolge mit Secale montanum, da bei Secale montanum die Befruchtungsverhältnisse sehr schlecht sind. Um diese für Mutterkornkultur auszuwerten, bastardierte Tschermack Secale montanum mit Secale cereale. An den Bastarden erreichte man sehr große Mutterkornernte (270 kg auf 1 ha umgerechnet). Leider konnte man diese Bastarde wegen züchterischer Schwierigkeiten nicht auswerten.

Es ist eine alte Beobachtung, daß an Wegrändern einzelnstehenden Roggenpflanzen, sowie in lockeren, stark ausgewinterten Roggenbeständen, bei Nachtrieben usw., meist viel Mutterkorn zu finden ist. Der Grund dafür ist ebenfalls das Ausbleiben der Befruchtung. Man empfahl deshalb für Mutterkornkultur das Anbauen von solchen Roggensorten, die eine verschiedene Blütezeit haben. Außerdem hielt man den Anbau des Roggens in dünnen Streifen für zweckmäßig, da so der Blütenstaub schon durch den geringsten Wind fortgeweht wird.

Bei den späteren Mutterkornkulturversuchen, wie bei den Kulturen von Kirchhoff (12), McCrea (15) und anderen wurde nach den erwähnten Maßnahmen gearbeitet.

Es ist noch die Infektionsmethode zu erwähnen, die man in Ungarn im Tieflande stellenweise verwendet hat. Zur Infektion diente ein Seil, das von zwei Männern in der Höhe der Roggenähren ausgespannt wurde, und über die Ähren im Zick-Zack gezogen wurde. Dadurch schmiert sich der

stellenweise vorhandene Honigtau zuerst auf das Seil, und wird dann auf die benachbarten Blüten übertragen. Diese Behandlung löst den beschriebenen Blüteneffekt aus, wobei das Hin- und Hergehen sich sehr bewährte, denn so blieb das Seil für längere Zeit mit den Ähren in Berührung. Dabei wird die Infektion auch dadurch gefördert, daß der verschmierte Honigtau die Insekten in das Innere des Roggenfeldes lockt.

Kurz zusammengefaßt zeigt es sich, daß bis zu einer rationellen Kultur noch viele Schwierigkeiten zu überwinden sind. Das Herstellen der Infektionsflüssigkeit scheint gelöst zu sein, doch stehen in der Praxis noch viele Schwierigkeiten einer Konidienkultur entgegen. Die größten Schwierigkeiten ergeben sich aber bei der Durchführung der Infektion. Hier wäre erstrebenswert, die Infektion von dem Aufblühen des Roggens unabhängig zu machen, wobei aber das Infektionsmaterial möglichst gut ausgenutzt werden müßte. In der vorliegenden Arbeit bemühte ich mich, diese Schwierigkeiten zu überwinden. Meine Versuche fing ich im Jahre 1934 (2) an, meine erste, mit Pferdekraft betriebene Infektionsmaschine probierte ich im Jahre 1936 aus[1]).

Die Gewinnung des Infektionsmaterials.

Es stehen uns drei Wege zur Verfügung, Infektionsmaterial zu erhalten: die saprophytische Mutterkornkultur, die parasitische und das Überwintern der Sphacaelia-Mützchen.

Erstens wird die saprophytische Kultur entweder mit Askosporen oder mit einem sterilen Stückchen des Sklerotiums angelegt. Askosporen gewinnt man von den Fruchtkörpern des Sklerotiums. Die Bedingungen, die das Austreiben von Fruchtkörpern ermöglichen, arbeiteten Falck (7) und später Kirchhoff (12) aus.

Nach ihrer Methode gelingt es leicht, Fruchtkörper zu erziehen. Dazu braucht man nur die Sklerotien feucht bei niedriger Temperatur aufzubewahren. Im allgemeinen genügt es, wenn man auf die Sklerotien eine Temperatur von 0—5° C ungefähr 1 Monat lang einwirken läßt. Bringt man hierauf die Sklerotien auf Zimmertemperatur, so treiben diese Fruchtkörper. Von diesen gewinnt man die Askosporen steril, indem man die Sklerotien in einer feuchten Kammer hält und nachher die Sklerotien in Sonnenschein legt, dabei werden die Askosporen ausgeschleudert (6). Hält man nun eine mit festem Nährboden beschickte Petrischale über die Fruchtkörper, so werden die Askosporen durch das Ausschleudern in die Schale übertragen. Noch einfacher läßt sich eine Kultur anlegen, wenn man nach Falck (7) aus dem Sklerotium steril kleine Stücke ausschneidet und diese auf den Nährboden legt. Innerhalb 5—6 Wochen nach dem Einimpfen, bildet sich auf dem Nährboden ein Hyphengeflecht, das viele Konidien abschnürt. Um diese Konidien zu gewinnen, hebt man das Hyphengeflecht von dem Nährboden ab, zerreibt es mäßig in einem kleinen Mörser, filtriert es nach Aufschwemmung durch ein weiches Filter, wobei die Konidien durchfließen. Zur Bildung der Konidien trägt auch das unter dem Hyphengeflecht liegende Sklerotiumstückchen bei, da es in Oidien zerfällt. Mit dieser Methode gelingt es, in einer Petrischale je Quadratzentimeter 50—250 ccm einer Infektionsflüssigkeit zu gewinnen, die eine Konidienzahl von 5000 je Kubikmillimeter aufweist.

Um zweitens mit der parasitischen Methode Infektionsmaterial zu erhalten, strebt man nach einem möglichst großen Honigtaugewinn. Zu der ersten Infektion des Roggens kann man ebenfalls Askosporen oder Konidien einer saprophytischen Kultur gebrauchen. Verwendet man Askosporen zur Infektion, so muß man abwarten, bis die Fruchtkörper gut ausgereift sind,

[1]) Der Chinoin A.-G., Ujpest, möchte ich auch bei dieser Gelegenheit meinen besten Dank aussprechen für das freundliche Entgegenkommen, mit dem sie meine Versuche unterstützte.

worauf man sie zu einem Brei verreibt, diesen verdünnt und ihn nach Filtration zur Infektion verwendet.

Bei den Versuchen von Hecke und Kirchhoff genügte es, wenn der vorgetriebene Roggen um 8—10 Tage früher infiziert werden konnte, als der Roggen im Freiland blühte. Bei meinen Versuchen mußte man die Infektion viel früher im Treibhaus durchführen, um die Freilandinfektion möglichst sofort nach dem Erscheinen der Ähren vornehmen zu können, damit zur Blütezeit im Freiland sich bereits dort schon Honigtau bilde. Da in Ungarn die Blütezeit schon um den 10. Mai eintritt, so mußte das Infektionsmaterial am 25. April bereits vorhanden sein. Von der Infektion bis zum Erscheinen des Honigtaus vergehen auch im Glashaus ungefähr 10 Tage, man mußte daher die erste Infektion spätestens am 10. April vornehmen.

Zum Antreiben gebrauchte ich Winterroggen, dieser wurde vom Freiland Anfang Februar ins Gewächshaus gebracht. Das Treiben zeigte manche Schwierigkeiten, da der Roggen die dunstige warme Luft des Gewächshauses nur schwer verträgt. Beim In-Halm-Schießen wurde er vom Mehltau schwer befallen, gegen den die üblichen Bekämpfungsmittel erfolglos waren. Man konnte die Verbreitung des Mehltaues nur dadurch mindern, indem man mit der Bewässerung sehr sparsam vorging und hauptsächlich für starke Lüftung sorgte. Weitere Schwierigkeiten entstanden dadurch, daß sich die Halme sehr leicht umlegten, so daß man genötigt war, sie an Stützen zu binden.

Bei meinen ersten Versuchen infizierte ich die Ähren durch Besprühung einer Infektionsflüssigkeit. Bald zeigte es sich aber, daß man mit einer Injektionsspritze viel leichter infizieren kann. Dazu befestigt man an die Spritze eine möglichst dünne Kanüle und sticht diese in die noch geschlossenen Blüten, wobei ein wenig der Infektionsflüssigkeit in die Blüte gepreßt wird. Dies läßt sich sehr leicht durchführen, weil es völlig gleichgültig ist, welchen Teil der Blüte man durchsticht, da die Infektion in jedem Fall gelingt. Diese Methode hat den großen Vorteil, daß man dabei nicht auf das Öffnen der Blüten zu warten hat. Kirchhoff infizierte mit Erfolg die Blüten 5 bis 6 Tage vor dem Aufblühen, dies gelingt bereits schon dann, wenn die Ähren noch tief in der Blattscheide verhüllt sind. Doch ist es zweckmäßig in der Praxis — um möglichst viel Honigtau zu gewinnen —, nur ausgebildete Ähren zu infizieren.

Abb. 1.

In ungefähr 6—12 Tagen nach der Infektion erscheint der Honigtau in kleinen dickflüssigen Tröpfchen. Man kann diese nur mit Schwierigkeit sammeln, erhöht man aber den Feuchtigkeitsgehalt der Luft, so vergrößern sich die Tröpfchen durch Ansaugen von Wasserdunst, so daß sie sich leicht sammeln lassen. Zu diesem Zweck leistete die Apparatur nach Abb. 1 gute Dienste, wobei die Tröpfchen mit einem Luftstrom abgesaugt und in ein Gefäß gesammelt werden. Bei gutem Unterdruck läßt sich das schnell durchführen, da es genügt, wenn man mit dem Saugrohr nur in die Nähe der Tröpfchen gelangt. Abb. 2 zeigt das Sammeln des Honigtaus mit dieser Methode. Eine andere Methode für das Sammeln ist das Abwaschen. Man verwendet es dann, wenn man das Infektionsmaterial für weitere Infektionen sofort verwenden kann. Diese Methode bewährt sich beim Sammeln im Freien, da dort der Honigtau

sehr dickflüssig ist und manchmal bei kühlem Wetter überhaupt keine Tröpfchen bildet. Zum Abwaschen dient ein Sammelgefäß, das so hergestellt ist, daß man die Ähren möglichst in aufrechter Lage abwaschen kann. Ich ließ dazu gemäß Abb. 3 ein retortenähnliches Gefäß herstellen. Man kann aber auch einen Erlenmeyerkolben nach Bolton[1]) verwenden. Beim Abwaschen des Honigtaus verfährt man folgenderweise:

Man füllt das Gefäß mit Wasser, bringt eine Ähre hinein und versperrt die Öffnung mit dem Daumen wie die Abbildung zeigt, und schüttelt das Gefäß in horizontaler Richtung, wobei sich der Honigtau abwaschen läßt. Man soll darauf achten, daß man den Halm nicht bricht. Nach dem Abwaschen von 2—4 Ähren wechselt man die Flüssigkeit, da sonst ein Verlust dadurch eintreten würde, daß die schon abgewaschenen Ähren viel von der konidienreichen Flussigkeit mit sich nehmen.

Abb. 2.

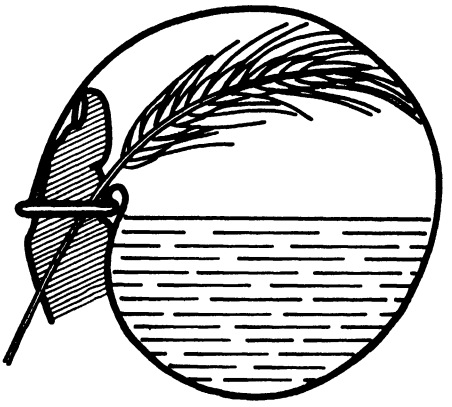


Abb. 3.

Für die Praxis ist es wichtig, die Keimfähigkeit der Konidien erhalten zu können, da dieselben ihre Keimfähigkeit sehr leicht verlieren. Sie leiden oft schon im Glashause, wenn die Temperatur über 35° C geht, eine Erhöhung der Temperatur auf 45° C kann die Keimfähigkeit gänzlich vernichten, man muß darum auf die Kühlung und Lüftung des Gewächshauses große Sorgfalt legen. Es gelingt jedoch, den Honigtau nach Hecke (9) dadurch keimfähig zu erhalten, daß man ihn eintrocknet und offen aufbewahrt. Zu diesem Zweck läßt man ihn in einer mit Gaze gefüllten Petrischale eintrocknen. Es gelingt aber auch, den Honigtau einfach durch Abkühlung bei einer Temperatur zwischen 0—4° C aufzubewahren.

Um einen Anhaltspunkt über die erzielbare Menge des Infektionsmaterials bei der Glashauskultur zu gewinnen, rechnet man je Quadratmeter 75 ccm Honigtau mit einer Konidienzahl von 300 000 je Kubikmillimeter, wobei die nötigen Wege zur Kulturfläche mitgerechnet werden. Ich erhielt bei meiner Kulturfläche von 13,5 qm 1 l Honigtau, der nach Verdünnung zur Freilandinfektion 60 l Infektionsflüssigkeit mit einer Konidienzahl von 5000 im Kubikmillimeter ergab.

Beim Großbetrieb sollte man die ganze Glashauskultur beseitigen, indem man den Roggen im Süden, wo er früher blüht, zur Honigtaugewinnung

[1]) Vgl. „Jenaer Glas" den Katalog 4671/14.

infiziert und die Mutterkornkulturen im Norden anlegt. Bei der Klimadifferenz zwischen Nord- und Südungarn bekommt man so für das Ausschieben der Ähren mindestens einen Zeitgewinn von 10—15 Tagen. Baut man im Süden einen frühreifen Roggen an, im Norden einen spätreifen, so läßt sich dieser Zeitgewinn noch vergrößern. Bei einer solchen Honigtaukultur bringt man den infizierten Roggen vom Freiland nach dem Erscheinen des Honigtaus in einen geschlossenen Raum, wo man für die nötige Luftfeuchtigkeit sorgen kann. Dabei zeigt es sich, daß man zu diesem Zweck den Roggen nicht in Kisten anzubauen hat, sondern es genügt, wenn man den Roggen vom Felde mit Wurzeln auszieht und ihn so in einem geschlossenen Raum, etwa in einer Scheune in Wasser stellt.

Die dritte Möglichkeit, um Infektionsmaterial zu bekommen, erreicht man dadurch, daß man die Konidien der Sphacaelia-Mützchen überwintert. Die Sphacaelia-Mützchen findet man an der Spitze des frisch eingesammelten Mutterkorns, beim Trocknen brechen diese vom Sklerotium leicht ab und gehen verloren, deshalb findet man sie in der Handelsware nur sehr selten. Nach den Angaben von Stäger (19) wissen wir, daß die Konidien in den Sphacaelia-Mützchen selbst nach 10 Monaten ihre Keimkraft behalten. Diesbezüglich zeigten meine Versuche, daß die Konidien nur bei kühler, mäßigfeuchter Luft zu überwintern sind, da bei trockener Luft die Keimfähigkeit schon nach 4 Monaten verlorengeht. Außerdem hatte ich einen Schaden durch die Larve der Tinea cloacella, die nicht nur die Sklerotien, sondern auch die Sphacaelia-Mützchen vernichtet.

Bei meinen Proben vom frischen Mutterkorn gewann ich nach Abreibung von 1 kg Mutterkorn 3—6 g Sphacaelia-Mützchen. Zwickt man aber diese mit Sorgfalt ab, so gewinnt man von 1 kg Mutterkorn 25 g Sphacaelia-Mützchen. Aus den Mützchen erhält man am leichtesten die Konidien durch Auswaschen. Man bringt die Mützchen in ein kleines Leinensäckchen und taucht es unter Wasser, wobei durch Knetung die Konidien sich aus dem Hyphengeflecht loslösen und ins Wasser übergehen. Ich erhielt beim Auswaschen von 40 g Sphacaelia-Mützchen in 1 l Wasser eine Konidienzahl von 5000 je Kubikmillimeter. Man erreicht also im Durchschnitt von 10 kg Mutterkorn 1 l Infektionsflüssigkeit von obiger Konzentration für den Gebrauch im Freiland.

Die Infektionsmaschine für den Großbetrieb.

Die Infektionsmethode mit der Spritze, die eine frühzeitige Infektion im Glashaus ermöglicht, gab den Gedanken, eine Infektionsmaschine für Freilandkulturen nach dieser Methode auszuarbeiten.

Bei der Bearbeitung dieses Verfahrens war es zunächst notwendig, zu untersuchen, mit welcher Wahrscheinlichkeit eine Infektion erhalten werden kann. Dazu benutzte ich eine Infektionsmethode, mit der man punktartig, mit ganz kleinen Mengen der Infektionsflüssigkeit infizieren kann. Zuerst wurden die verschiedenen Teile der offenen oder eben verblühten Blüte infiziert. Dies geschah, indem man die Blüten durchstach und in das Innere der Blüte eine Spur der Infektionsflüssigkeit brachte. Infiziert man so den oberen Blütenteil, also an der Gegend der oberen Spitze der inneren Blütenspelze, so tritt keine Infektion ein. Etwas tiefer gelang schon hie und da die Infektion, sicher wird sie jedoch nur dann, wenn die Infektionsflüssigkeit in die Nähe des Fruchtknotens gebracht wird. Infiziert man aber wenigstens 4—5 Tage vor dem Blühen, so ist es völlig gleichgültig, an welcher

Stelle der Blüte man die Infektion vornimmt, denn in diesem Falle ist die Infektion immer erfolgreich. Dies erklärt sich dadurch, daß die unreifen Staubbeutel für den Pilz als Nährboden dienen.

An der zur Ausführung der Infektion in größerem Maßstabe hergestellten kleinen Maschine waren zwei Rollen in senkrechter Lage so befestigt, daß man zwischen ihnen die Roggenähren durchführen konnte. Auf der Mantelfläche der einen Rolle wurden kurze Injektionskanülen befestigt. Die andere Rolle hatte die Aufgabe, die durchgeführten Ähren gegen die Infektionsrolle zu drücken. Abb. 4 zeigt die obere Ansicht von den zwei Rollen mit ihrem Zubehör. Die Infektionsrolle 1 wird mit der Hand durch die Scheibe 3 in Bewegung gesetzt. Die Ähren werden zwischen den Richtplatten 4 und 5 zur Infektionsrolle geführt, wobei die Rolle 2 die Ähren gegen die Infektionsrolle drückt. Ein Kamm 6 verhindert, daß sich die Ähren auf die Rolle aufwickeln. Die Infektionsrolle wurde aus Messing hergestellt und die Injektionskanülen auf deren Mantelfläche so befestigt, daß sie in Längsreihen mit den Bohrungen 7 der Messingrolle kommunizierten. Durch diese Bohrungen werden die Injektionsnadeln mit der Infektionsflüssigkeit bei 8 versorgt, während sie bei der Eintrittsöffnung 9 mit dem Reservoir verbunden waren. Der Zweck dieser Anordnung war, nur jene Kanülen mit der Infektionsflüssigkeit zu versehen, die eben an der Infektion tätig waren. Vor der Eintrittsöffnung war eine Kapillare angebracht, die die Menge der zufließenden Flüssigkeit einstellte. Die Maschine konnte von einem Mann in Betrieb gesetzt werden, indem er den Behälter auf den Rücken nahm und die Maschine mit der linken Hand in der Höhe der Ähren hielt, um sie mit der Rechten in Betrieb zu setzen. Dabei ging der Mann langsam im Roggenfelde vorwärts, wobei die Ähren durch die Maschine geführt wurden.

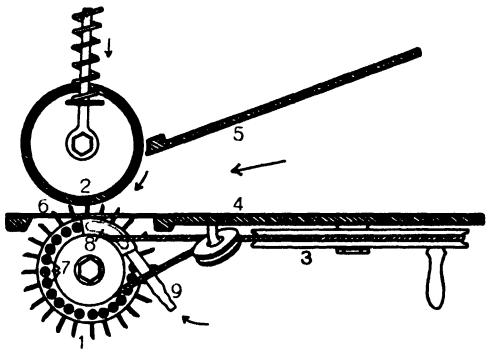


Abb. 4.

Die Versuche mit dieser Maschine zeigten, daß eine ausgiebige Infektion mit Leichtigkeit erreicht werden kann, doch tritt dabei eine sehr große Verschwendung der Infektionsflüssigkeit auf, da die Infektionsflüssigkeit dauernd durch die Maschine fließt. Um dies zu vermeiden, bestand die folgende Möglichkeit: taucht man eine Nähnadel mit der Öse voran in eine Flüssigkeit, so bleibt in der Öse beim Herausziehen durch die Kapillarkräfte ein kleiner Tropfen hängen. Haben sich die Ösen mit der Infektionsflüssigkeit gefüllt und werden sie in eine Blüte gestochen, so wischt sich die Infektionsflüssigkeit in der Blüte ab, wobei es zu einer Infektion kommt. Diese Methode hatte auch viele technische Vorteile.

Die Nadeln hatten eine viel größere Festigkeit, als die Injektionskanülen, so daß sie sich nicht verkrümmten. Die Befestigung der Nähnadeln war ebenfalls sehr einfach. Da das Füllen der Ösen durch einfaches Eintauchen technisch schwer durchführbar ist, wurde dazu ein dicker Filz verwandt, der mit Infektionsflüssigkeit gesättigt war. Drückt man die Nadeln in denselben, so füllen sich die Ösen und halten die Flüssigkeit auch beim Herausziehen fest. Der Filz wurde auf eine Rolle aus Messing, wie Abb. 5 zeigt, befestigt. An der Mantelfläche der Rolle waren Furchen, die mit den Löchern kommunizierten.

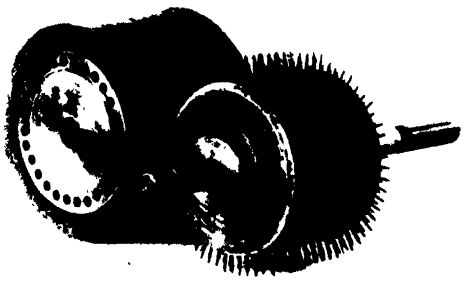


Abb. 5.

Preßt man durch die Löcher Infektionsflüssigkeit, so wird der auf der Rolle gezogene Filz, durch die Furchen gleichmäßig durchtränkt. Um bei dieser Infiltration eine unnötige Verschwendung der Infektionsflüssigkeit zu vermeiden, wurde die Infektionsflüssigkeit nur in jene Löcher gepreßt, die gerade den Nadeln gegenüber standen. Erleichtert wird die Durchtränkung des Filzes durch die Zentrifugalkraft, wobei sich bei schneller Rotation an der Fläche des Filzes eine Wasserschicht bildet, die das rasche Füllen der Ösen bewirkt. Die dabei evtl. abgeschleuderte Infektionsflüssigkeit wird durch eine Umhüllung gesammelt und führt sie in ein Gefäß, wo sie zur weiteren Infektion wieder verwendet werden kann.

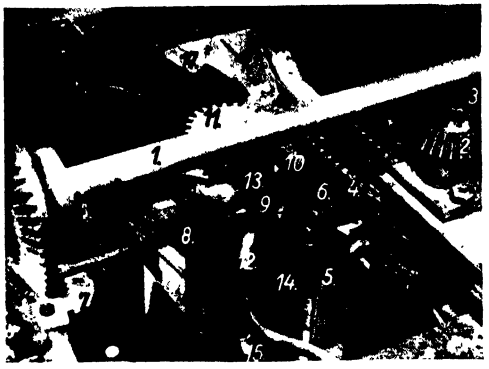


Abb. 6.

Nachdem die oben beschriebene kleine Handmaschine im Freiland gute Dienste leistete, wurde zur Konstruktion einer Maschine für den Großbetrieb geschritten. Diese Maschine bestand grundsätzlich aus vier kleinen Einheiten, die auf gemeinsamem Gerüst, auf Räder gestellt mit Pferdekraft in Betrieb gesetzt werden konnten. Abb. 6 zeigt eine Einheit der Maschine, wo 1 die gemeinsame Betriebsachse ist, die mit dem Kegelzahnradpaar 2 und 3 und durch die Kettenübertragung 4 die Infektionsrolle 5 in Betrieb setzt. Der Arm 6 stellt den Einstellhebel dar, der die Regulierung der Stechtiefe der Nähnadeln gestattet, indem er die Entfernung zwischen der Infektionsrolle und den Ähren ändert. Die Gegenrolle 7 mit der Foderung 8 gehört zu der nächsten Einheit. Die Filzrolle 9 wird durch das Zahnradpaar 10 und 11 in Bewegung gesetzt. Das Zufließen der Infektionsflüssigkeit geschieht durch das Rohr 12 und bei 13 wird es in die Bohrungen der Filzrolle gepreßt. Die gegen die Schutzhülle 14 abgeschleuderte Infektionsflüssigkeit fließt bei 15 ab. Die Richtplatten 16 und 17 führen in der Richtung des Pfeiles den Roggen durch die Maschine.

Der Halm des Roggens ist so elastisch, daß die kleine Reibung, die bei dem Gleiten der Ähren an der Richtplatte entsteht, die Halme stark niederbeugt, so daß sie von den Infektionsrollen nicht ergriffen werden konnten. Um dies zu vermeiden, wurde an beiden Seiten der Zuführung ein unendliches Band angelegt, das die gleiche, jedoch entgegengesetzte Laufgeschwindigkeit hatte wie die Maschine, so daß von den zwei Bändern die Ähren zusammengefaßt und zur Infektionsrolle geführt wurden. Die zweckmäßige Breite der Zuführung betrug 30 cm, was bei den vier Einheiten eine Gesamtbreite von 120 cm ergab. Eine Übersicht über die Maschine zeigt Abb. 7. Die vier Einheiten sind auf der Maschine so befestigt, daß man sie durch die zwei Schraubenspindeln 1 und 2 an der Seite der Maschine entsprechend der jeweiligen Höhe des Roggens senken oder heben kann. Der Behälter eines Hochdruckzersteubers 3 versorgt die Maschine mit der Infektionsflüssigkeit. Um die Druckschwankungen des Behälters während dem Betrieb auszugleichen, wurde vor der Filzrolle eine Kapillare eingeschaltet. Die überfließende Flüssigkeit sammeln die Behälter 4.

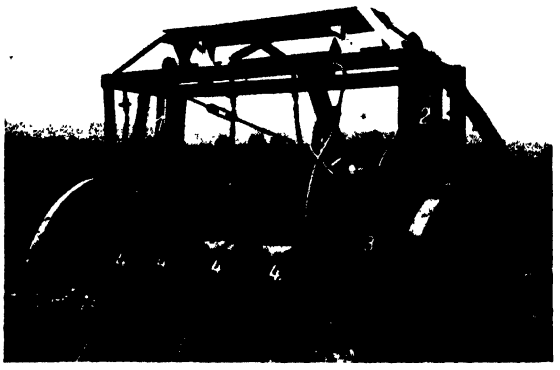


Abb. 7.

Zur allgemeinen Orientierung sei erwähnt, daß die Arbeitsleistung der Maschine 50 Ar pro Stunde beträgt, wobei pro Ar 4—8 dl Infektionsflüssigkeit verbraucht werden.

Über die Versuche im Freiland.

Die Maschine ermöglicht eine Infektion, die vollkommen unabhängig ist von der Blütezeit und von der Witterung. Um aber einen möglichst großen Mutterkornertrag zu erhalten, muß man die Umgebung des Versuchsfeldes günstig wählen. Bei der maschinellen Infektion bleiben all die Ähren unberührt, die die Höhe der Infektionsrollen nicht erreichen, wir müssen darum diese der natürlichen Verbreitung des Pilzes überlassen. Dies geschieht im größten Maße durch die Insekten (auch die Bienen suchen in der Not den Honigtau auf). Darum muß man das Versuchsfeld möglichst neben Wiesen in tiefer Lage legen, wo die Zahl der Insekten groß ist und wo dabei auch die Luftfeuchtigkeit und der Tau zur Verbreitung des Pilzes beiträgt.

Die Roggensorten, die man zur Mutterkornkultur verwenden will, müssen beim Ährenschießen einen möglichst einheitlichen Wuchs aufweisen. Dies kann man zum Teil auch dadurch erreichen, daß man den Roggen dicht anbaut, wobei sich der Roggen weniger bestockt. Außerdem muß man für die gleichmäßige Nährkraft des Bodens Sorge tragen.

Abb. 8.

Um eine möglichst schnelle Arbeit der Maschine zu ermöglichen und das Niedertreten des Roggens zu vermeiden, und da die Arbeitsbreite der Maschine 120 cm beträgt, wurde der Roggen in Streifen dieser Breite angebaut. Zwischen den Streifen wurde ein Weg für das Zugtier und die Räder der Maschine freigelassen (vgl. Abb. 8). Außerdem erwies es sich für zweckmäßig, die Streifen in einer Spirale anzubauen, wobei ein unnötiges Wenden zu vermeiden ist.

Die richtige Wahl der Infektionszeit ist für den Erfolg von größter Bedeutung. Die folgenden Gesichtspunkte sprechen dafür, daß die Infektion sofort nach dem Ährenschießen auszuführen ist: es wurde schon erwähnt, daß die unreifen Staubbeutel einen Nährboden für den Pilz bilden, außerdem sind die unreifen Blüten viel dichter und steifer, so daß diese Blüten dem Stich der Nähnadeln nicht ausweichen, was oft nach dem Abblühen vorkommt. Die Staubbeutel helfen dabei zum Auswischen der kapillar gebundenen Tröpfchen der Öse. Günstig ist auch der Umstand, daß der Roggen beim Ährenschießen eine viel einheitlichere Höhe besitzt als beim Blühen, dabei sind die Halme nicht so elastisch wie beim Blühen, so daß die Infektion sehr erleichtert wird. Endlich ist es für die natürliche Verbreitung von größter Bedeutung, daß durch die künstliche Infektion der Honigtau sich eben zur Blütezeit bildet.

Bei der maschinellen Infektion ist die Konidienzahl der Infektionsflüssigkeit von großer Bedeutung für das Gelingen der Mutterkornkultur. Die Tröpfchen, die die Ösen festhalten, sind sehr klein, so daß eine zu starke Verdünnung der Infektionsflüssigkeit, etwa unter 1000 Konidien je Kubikmillimeter, den Erfolg sehr gefährdet. Eine Konidienzahl von 5000 hatte sich aber schon für genügend erwiesen. Hat man viel Konidienmaterial, so

wird man die Zahl der Konidien noch vergrößern. Gewinnt man das Konidienmaterial vom Freiland durch Abwaschen des Honigtaues, so gebraucht man die Flüssigkeit ohne Verdünnung, da es zweckmäßig ist, die Konidiensuspension durch die Zahl der abgewaschenen Ähren zu regeln.

Das Sammeln der Sklerotien wurde ungefähr 10 Tage vor der Reife des Roggens durch Kinder vorgenommen. Von diesen arbeiteten immer zwei an einem Streifen. Als undurchführbar erwies sich die Auslese der Sklerotien aus dem ausgedroschenen Korn. Man hatte dabei einen großen Verlust, der zum Teil schon bei der Reife durch Ausfallen der Sklerotien entsteht, ein weiterer Verlust entstand beim Schnitt, so daß beim Dreschen der Garben ungefähr $^2/_3$ des Mutterkornes selbst bei größter Sorgfalt verlorenging. Außerdem kann man die Dreschmaschine nur mit einer Holztrommel so einstellen, daß beim Dreschen die Sklerotien nicht brechen; auch ist das Auslesen der Sklerotien aus dem Korn ziemlich schwer.

Der Mutterkornertrag schwankte bei den Versuchsparzellen bei Winterroggen zwischen 90 und 190 kg, er betrug in einem Falle sogar 310 kg pro Hektar. Secale montanum ergab 435 kg pro Hektar. Der Mutterkornertrag nimmt zu mit der Halmdichte des Roggenfeldes, wobei die kurzen Ähren, die einen kleinen Samenertrag geben, für Mutterkornkultur sich gut eignen.

Über die Gefahr einer Verseuchung der Umgebung.

Bei den Mutterkornepidemien des Mittelalters bestand die Brotfrucht zu $^1/_4$—$^1/_3$ aus Mutterkorn. Dabei kam die Giftwirkung des Mutterkorns zur vollen Geltung. Selbst ein Genuß von Speisen mit einem Mutterkorngehalt von 1% zog schwere Folgen nach sich. Man darf deshalb die Frage einer Verseuchung nicht vernachlässigen.

Bei einer Mutterkornkultur ist im ersten Jahre eine Verbreitung nur durch Konidien möglich, dabei entsteht eine natürliche Infektion nur bei offenen Blüten. Wir müssen darum bei der Untersuchung der Verseuchungsgefahr zuerst all die Umstände betrachten, die eine lange Blütendauer zur Folge haben und dadurch die Schartigkeit des Roggens erhöhen. Man findet hauptsächlich schartigen Roggen bei Bauernsaatgut, da die dünnen Parzellen und schlechte, vermischte Roggensorten dies stark fördern. Außerdem wird der Roggen bei schlechter Überwinterung schartig und auch dann, wenn bei der Blüte viel Regen fällt. Man findet aber in größeren Landwirtschaften selten Schartigkeit, da reines Saatgut verwendet wird und schlecht überwinterter Roggen ausgeackert wird. Man muß sich daher vor einer Verseuchung nur dann fürchten, wenn die Befruchtung durch schlechte Witterung erschwert wird. Aber auch in diesem Falle übertragen nur die Insekten die Infektion, wobei die Versuche zeigten, daß eine unmittelbare Verseuchung überhaupt nicht auftritt. Bei mehreren Gelegenheiten lag das Versuchsfeld an der Seite einer großen Roggentafel, dabei wirkte die Infektion nur auf eine Breite von 4 m. Über eine Entfernung von 10 m konnte man nur selten ein Sklerotium finden, denn die Insekten besuchen mit Vorliebe nur Ränder des Feldes. Eine ärgere Verseuchung kam jedoch auch am Rande des Roggenfeldes nicht vor, denn ein Weg von 10 m Breite oder eine buschige Baumallee hemmte die Verbreitung. Bei einem anderen Versuch war eine Infektion nur in entgegengesetzter Richtung des Windes zu bemerken, weil die Insekten gegen die Windrichtung zu fliegen pflegen.

Die ausgefallenen Sklerotien können durch Umackern leicht vernichtet werden. Aderhold (1) und Brefeld (4) hatten Versuche angestellt, nach denen die Sklerotien nur dann keimten, wenn sie sich dicht unter der Erdoberfläche befanden. Anderseits ist die Lebensdauer der Sklerotien ebenfalls sehr beschränkt, da sie über 2 Jahre nur schwer zu erhalten sind. Würden einige Sklerotien doch Fruchtkörper bringen, so besteht immer nur eine geringe Wahrscheinlichkeit, daß die ausgeschleuderten Askosporen infizieren. Am besten läßt sich das durch jene Kulturversuche beweisen, bei denen die Verbreitung durch einfaches Verstreuen der Sklerotien vorgenommen wurde. Diese Methode bringt sehr selten Erfolg.

Endlich kann heutzutage die Mühlenindustrie den größten Teil des Mutterkornes aus dem Getreide auslesen, wobei etwa ein zurückbleibender Mutterkorngehalt von 0,1% nach Kobert (13) als unbedenklich bezeichnet werden kann.

Zusammenfassung.

Nach Beschreibung der Methoden mit denen man Mutterkorn praktisch zu kultivieren versuchte, wird die Gewinnung des Infektionsmaterials behandelt. Es stehen drei Wege zur Verfügung: die saprophytische, die parasitische Kultur und das Überwintern der Sphacaelia-Mützchen.

Die Infektion im Freien geschieht durch eine Maschine, die durch Anstechen die Blüten infiziert. Dazu werden die Ösen von Nähnadeln verwandt, welche mit Infektionsmaterial gefüllt in die Blüte gestochen werden, wobei das Infektionsmaterial in die Blüte übertragen wird. Das Verwenden von Nähnadelösen ermöglicht einen sehr geringen Verbrauch von Infektionsmaterial. Bei dieser Infektionsmethode gelingt es, eine Infektion schon beim Ährenschießen zu erhalten, wobei die natürliche Verbreitung des Pilzes sehr begünstigt wird, da zur Blütezeit die infizierten Ähren schon Honigtau bilden.

Nach Beschreibung der Freilandversuche werden einige Beobachtungen über die selbständige Verbreitung des Pilzes beschrieben und gezeigt, daß eine Gefahr der Verseuchung der Gegend nicht zu befürchten ist.

Schrifttum.

1. Aderhold, Zur Biologie und Bekämpfung des Mutterkorns. (Arb. a. d. biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtschaft a. Kais. Ges.-Amt. Bd. 5. 1905. S. 31.) — 2. Békésy, M., Budapest, Szabadalmi leirás 1934, 112 741, X/h. — 3. Brefeld, O., Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie. Heft 4 (1881), 8 (1889), 10 (1891). — 4. Ders., Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie. Heft 14 (1908). — 5. Chinoin, A. G. und Wolf, Ujpest, Anmeld. C. 45 551, Kl. 12, p. 11. — 6. Engelke, E., Neue Beobachtungen über die Vegetationsformen des Mutterkornpilzes Claviceps purpurea. (Beiblatt „Hedwigia". 51. Jahrg. 1902. S. 221—222.) — 7. Falck, R., Über die Bekämpfung und die Kultur des Mutterkorns im Roggenfelde. (Pharm. Ztg. 67. Jahrg. 1922. Nr. 73—75, 77, 79.) — 8. Hekke, L., Die Kultur des Mutterkorns. (Schweiz. Apotheker-Ztg. 1921. Nr. 21—22.) — 9. Ders., Die Kultur des Mutterkorns. (Ebenda. 1922. Nr. 4.) — 10. Ders., Neue Erfahrungen über Mutterkornkultur. (Wiener Landw. Ztg. 1932. Nr. 1/2.) — 11. Jaretzky, R., Alkaloidgehalt und Wirksamkeit saprophytischer Mutterkornkulturen. (Archiv d. Pharm. u. Berichte. 1935. Heft 6. S. 348.) — 12. Kirchhoff, H., Beiträge zur Biologie und Physiologie des Mutterkornpilzes. Inaug.-Diss. 1929. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 77. 1929. S. 310—369.) — 13. Kobert, R., Lehrbuch der Intoxikationen. 1906. — 14. Kreitmair, H. und Küßner, W., Über den Alkaloidgehalt von Claviceps purpurea bei Kultivierung auf künstlichem Nährboden. (Biochem. Ztschr. Bd. 239. 1931. S. 189—192.) — 15. McCrea, A., The reactions of Claviceps purpurea to variations of environment. (Amer. Journ. Bot. Vol. 18. 1931. p. 50—78.) — 16. Meyer, B., Die künst-

liche Kultur der Sphacaelia-Sporen und das Vorkommen und die Keimdauer derselben in der Natur. (Landw. Jahrb. Bd. 17. 1888. S. 924.) — 17. Smith, S. und Timmis, G. M., Journ. Chem. Soc. London. 1930. p. 1390. — 18. Staeger, R., Vorläufige Mitteilung über Impfversuche mit Gramineen bewohnenden Clavicepsarten. (Bot. Centralbl. Bd. 80. 1900. S. 145.) Ders., Infektionsversuche mit Gramineen bewohnenden Clavicepsarten. (Bot. Ztg. 1903. S. 111—158). Ders., Weitere Beiträge zur Biologie des Mutterkorns. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 14. 1905. S. 25—32.) Ders., Neuer Beitrag zur Biologie des Mutterkorns. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 17. 1906. S. 773—784; Bd. 20. 1907. S. 272—279.) Ders., Neue Beobachtungen über das Mutterkorn. (Ebenda. Bd. 27. 1910. S. 67—73.) — 19. Ders., Infektionsversuche mit überwinternden Clavicepskonidien. (Mykolog. Centralbl. Bd. 1. 1912. S. 198—201.) — 20. Tschermak, E., Maßnahmen zur Gewinnung größerer Mengen von Mutterkorn. (Mitt. d. Dtsch. Landw.-Ges. 1921. Stück 11. S. 184.) Ders., Zur künstlichen Gewinnung von Mutterkorn. (Dtsch. Landw. Presse. Bd. 49. 1922. S. 175.) — 21. Ders., Beiträge zur Vervollkommnung der Technik der Bastardierungszüchtung der vier Hauptgetreidearten. (Ztschr. f. Pflanzenzücht. Bd. 8. 1921.)

Referate.

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virusuntersuchungen.

Lewis, I. M., Cellinclusions and the life cycle of Rhizobia. (Journ. Bact. Vol. 35. 1938. p. 573—586.)

Auf färberischem Wege wird erneut der Nachweis geführt, daß die vielfach als Fortpflanzungskörper („Gonidien") angesehenen Zelleinschlüsse der Knöllchenbakterien nichts anderes sind als leblose, vermehrungsunfähige Fettkügelchen. Dasselbe konnte auch schon bei anderen Bakterien von anderen Autoren gezeigt werden. Die Vermehrung der Knöllchenbakterien geschieht nur in der bekannten Weise durch Querteilung der Zellen. Die pleomorphistischen Anschauungen von komplizierten Lebenskreisläufen bei Bakterien haben sich also in diesem Falle als irrig erwiesen.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Nilsson, R., Bjälfve, G. und Burström, D., Vitamin B_1 als Zuwachsfaktor für Bact. radicicola. (Naturwissensch. Jahrg. 26. 1938. S. 284.)

Bact. radicicola wächst auf rein synthetischen Nährböden nicht, sondern nur, wenn diesen noch Extrakte aus natürlichem Material wie Leguminosenpflanzen, Melasse oder Hefe zugesetzt werden. Das wirksame Prinzip dieser Stoffe wurde von Allison und Mitarbeitern mit Alkohol ausgezogen und als „Coenzym R" beschrieben. Verff. konnten feststellen, daß dieses Prinzip aus mehreren zusammenwirkenden Faktoren besteht, und glauben nunmehr im Vitamin B_1 einen derselben ermittelt zu haben. Mit 0,006 γ dieses Vitamins in 1 ccm der synthetischen Nährlösung entwickeln sich immerhin 25—30 Millionen Bakterien gegenüber 1000—2000 Millionen in derselben Lösung mit Hefeextrakt. Diese Wirkung von Vitamin B_1 kann noch erhöht werden durch einen Ätherextrakt aus Hefe, der für sich allein nur eine äußerst geringe Wirkung entfaltet. Unter Verwendung dieser beiden Faktoren läßt sich die obige Bakterienzahl auf etwa 500 Millionen erhöhen. Die Wirkung eines Hefeextraktes ist damit also immer noch nicht erreicht.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Krasil'nikow, N. A. und Tausson, T. A., Die Veränderlichkeit der Proactinomyceten und Mykobakterien. (Mikrobiologie. Bd. 7. Folge I. 1938. S. 50—74.) [Russisch.]

Zur Untersuchung benutzte man die aus verschiedenen Bodenarten UdSSR. isolierten Proactinomyceten und Mykobakterien. Es wurde festgestellt, daß diese Organismen sich verschiedentlich verändern und neue Formen bilden können. Einerseits konnte man die nicht erblichen Veränderungen, also Modifikationen, andererseits die Entstehung neuer Rassen, also Mutationen, feststellen. Bei der spontanen Bildung der Mutanten weisen diese meist einen Bau und eine Entwicklungsgeschichte auf, welche der höher stehenden Gruppe der Organismen eigen sind, also haben viele Proaktinomyzeten-Rassen den typischen Bau der Aktinomyzeten, und Mykobakterien den der Proaktinomyzeten. Jedoch konnte man keine Bildung der Aktinomyzeten-Rassen aus Mykobakterien beobachten. Auch wurde (unter den Laboratoriumsbedingungen) kein Dissoziationsprozeß, d. h. keine Entstehung der Rassen mit einfacherem Bau beobachtet; doch sollte dies nicht bedeuten, daß ein derartiger Prozeß ausgeschlossen ist. Weiter konnte festgestellt werden, daß nicht alle Proaktinomyzeten- und Mykobakterien-Arten in dem gleichen Grade variabel und zu Mutationen geneigt sind: beispielsweise bildete Mycob. hyalinum Söhng. Mutanten sehr oft, während Mycob. viridae unter denselben Bedingungen überhaupt keine Veränderungen zeigte. Allgemein stehen Mykobakterien in bezug auf die Bildung der Rassen an erster Stelle, Proaktinomyzeten an zweiter. Bei den letzteren zeigten die größte Neigung zur Rassebildung zitronenfarbige Stämme Proact. citreus n. sp. Jedoch werden Modifikationen und Mutationen meist bei den älteren Kulturen beobachtet. M. Gordienko (Berlin).

Virtanen, A. I., and Laine, T., Excretion of aspartic acid by free-living nitrogen-fixers. (Suomen Kemistilehti B. Vol. 10. 1937. p. 2.)

Azotobacter chroococcum hatte in 1000 ccm Rippelscher Nährlösung in 2½ Tagen 253,2 mg Stickstoff gebunden, wovon sich 7,9 mg als Aminostickstoff in der Nährlösung befanden. Ammonstickstoff konnte hierin nicht nachgewiesen werden, wohl aber Oximstickstoff. Die Aminoverbindung erwies sich ausschließlich als Asparaginsäure. Aus der Tatsache, daß diese schon in so jungen Kulturen angetroffen wurde, wird geschlossen, daß es sich nicht um ein Eiweißabbauprodukt, sondern um ein Produkt der Stickstoffbindung handelt. Folglich wird auch der Weg der Stickstoffbindung durch frei im Boden lebende Bakterien über dieselben Etappen verlaufen wie bei der symbiontischen Stickstoffbindung durch Knöllchenbakterien, nämlich: N → Hydroxylamin → Oxim der Oxalessigsäure → Asparaginsäure. Bortels (Berlin-Dahlem).

den Dooren de Jong L. E., Das Verhalten von Azotobacter unter abnormen Lebensbedingungen. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 9. 1938. S. 223—252.)

Unter abnormen Lebensbedingungen versteht Verf. Ernährung mit anorganischen und organischen Stickstoffverbindungen. Zur Kennzeichnung der auftretenden Variationserscheinungen benutzt Verf. die Nomenklatur von van Loghem. Azotobacter ist in der bekannten Weise wandlungsfähig. Auf festen Nährböden vorgezogen, wurde der Organismus auf normaler stickstoffreier Nährlösung wieder normal. Ganz anders bei Kultivierung auf entsprechenden flüssigen Nährböden (namentlich mit Pepton oder Fleischwasser): Hier ergaben sich bleibende Veränderungen morphologischer (dicke Fäden, auf mehr als das 10-fache angeschwollene, von viel Schleim umgebene Zellen usw.) und physiologischer Natur (Verlust der Farbstoffbildung, einmal auch Verlust des N-

Bindungsvermögens, das teilweise aber wieder regeneriert werden konnte). Bakteriophagie konnte nicht gezeigt werden. Radiumbestrahlung ergab morphologische Veränderungen, die aber nicht bleibend waren.

Rippel (Göttingen).

Console, A. D., and Rahn, O., A study of gelatin digeston by Bacillus subtilis. (Journ. Bact. Vol. 36. 1938. p. 47—52.)

Untersuchungen über die gelatineverflüssigende Fähigkeit eines Stammes von Bac. subtilis, der auf zuckerhaltigen Nährböden einen roten Farbstoff bildet, ergaben bei Bestimmung des Zersetzungsgrades mit Hilfe der Formoltitration, daß zwischen der Zahl der Bakterienzellen und der Menge zersetzter Gelatine keine eindeutige Beziehung besteht. Diese Beobachtung wird damit erklärt, daß wenigstens ein großer Teil der Proteolyse durch ein extrazelluläres Enzym getätigt wird, das Berkefeldfilter passiert. Wird einer Kultur gleich zu Beginn Glukose zugesetzt, dann unterbleibt die Proteolyse meist vollständig; und zwar wird das Enzym gar nicht gebildet. Gelangt die Glukose aber erst in den Nährboden, wenn die Zellvermehrung bereits aufgehört hat, dann wird die weitere Bildung proteolytischen Enzyms in keiner Weise beeinträchtigt, obwohl die Wirkung desselben infolge Säurebildung schwächer ist. Bac. subtilis, und zwar nicht nur der verwendete Laboratoriumsstamm, sondern auch ein solcher aus Marburg spaltet zuweilen auf unter Bildung einer mehr rauh wachsenden Form, mit stärkerer proteolytischer Wirkung und der Eigenschaft, den roten Farbstoff auch bei Abwesenheit von Zuckern zu bilden.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Koser, St. A., Chinn, B. D., and Saunders, F., Gelatin as a source of growth promoting substances for bacteria. (Journ. Bact. Vol. 36. 1938. p. 57—65.)

Gewisse Sorten von Gelatine übten auf besonders anspruchsvolle Bakterien einen ähnlichen wachstumsfördernden Einfluß aus wie Extrakte von Milz, Leber oder Hefe. Jedoch bedarf es zur Erzielung der gleichen Wirkung einer wesentlich größeren Menge von Gelatine. Ist diese gereinigt, wie sie für photographische Zwecke Verwendung findet, so ist der wachstumsfördernde Einfluß, der von ihr ausgeht, nur mehr gering. So scheinen gewisse Handelssorten von Gelatine eine viel versprechende Quelle darzustellen für solche Substanzen, die für die Züchtung jener Bakterien unerläßlich sind, die auf gewöhnlichen synthetischen Nährböden nicht gedeihen.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Friedmann, C. A., and Henry, B. S., Bound water content of vegetative and sporeforms of bacteria. (Journ. Bact. Vol. 36. 1938. p. 99—105.)

In früheren Arbeiten der Verff. und anderer Autoren wurde dargelegt, daß die Annahme, der geringe Wassergehalt der Bakteriensporen mache diese gegenüber hohen Temperaturen widerstandsfähig, nicht gerechtfertigt ist. Dazu sind die Unterschiede im Wassergehalt der vegetativen Zellen und der Sporen viel zu gering. In vorliegender Arbeit wird nun beweisendes Zahlenmaterial dafür beigebracht, daß nicht der Wassergehalt schlechthin verantwortlich zu machen ist für das unterschiedliche Verhalten vegetativer Zellen und Sporen, sondern wahrscheinlich das Verhältnis von freiem zu gebundenem Wasser. In allen Fällen zeigten jedenfalls die Sporen von Bac. subtilis, Bac. megatherium und Bac. mycoides ein weit größeres Wasserbindungsvermögen als die vegetativen Zellen. Es wird deshalb

angenommen, daß die Hitzeresistenz der Bakteriensporen wenigstens zum Teil diesem hohen Gehalt an gebundenem Wasser im Verhältnis zum Gesamtwassergehalt zuzuschreiben ist. Bortels (Berlin-Dahlem).

Smart, R.F., The reaktions of the swarm-cells of Myxomycetes to nutrient materials. (Mycologia. Vol. 30. 1938. p. 254—264.)

An 69 Spezies und Varietäten von endosporen Myxomyceten wurde der Einfluß verschiedener Nährmedien auf die Aktivität der begeißelten Schwärmer untersucht. Bei Verwendung von Dekokten natürlicher Substrate (faules Holz, Blätter usw.) ist die Zeit bis zur Bildung der Schwärmer kürzer als im Wasser. Die Sporen der meisten Spezies schwärmen darin außerdem länger, und die Bildung des Plasmodiums wird begünstigt. Verf. konnte nachweisen, daß die Schwärmer sowohl aus festen wie flüssigen Medien Nährstoffe aufzunehmen vermögen. Schultz (Berlin-Dahlem).

Winge, O., Über die Herstellung neuer Hefetypen durch Kreuzung. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 55. 1938. S. 265—267.)

Die im Tier- und Pflanzenreich weit verbreitete Kombinationskreuzung zur Fortpflanzung wertvoller Erbanlagen konnte auf die Hefen nicht ohne weiteres übertragen werden. Im Jahr 1935 begann Verf. mit Untersuchungen über die Biologie der Hefen, denen die Überzeugung zugrunde lag, daß diese prinzipiell mit andern Pflanzen darin übereinstimmen, daß 1. ein Befruchtungsakt im Verlauf ihres normalen Lebenszyklus erfolgt und 2. die Sporen wie Geschlechtszellen oder Sporen bei anderen Pflanzen durch die sog. Reduktionsteilung gebildet werden, die eine Spaltung der Vererbungsanlagen zur Folge haben, wodurch neue Typen entstehen könnten. Bisher herrschte die Anschauung, daß man durch Isolierung einer Einzelzelle und ihre Weitervermehrung die Sicherheit dafür erlange, daß die Kultur ohne hinzutretende Infektion gleichartig bleibt. Dies ist aber nach dem Ergebnis der oben erwähnten Untersuchungen nicht der Fall. Es wurde nämlich festgestellt, daß eine genetische Spaltung vor sich geht, wenn eine Hefe Sporen bildet, indem man mit Hilfe des Mikromanipulators die Sporen aus einem Sporensack isolierte und jede für sich züchtete. Ein Vergleich der Riesenkolonien aus der ursprünglichen Hefezelle mit den Riesenkolonien der Züchtungen aus vier Sporen von ein und demselben Sporensack zeigte einwandfrei, daß mindestens drei davon beträchtlich von dem Muttertyp abweichen. Eine Reinkultur von Hefe hört auf, gleichartig zu sein, wenn die Hefe Gelegenheit findet, Sporen zu bilden, die im Kulturboden keimen. (Bekanntlich kommt es häufig vor, daß auf der Glaswand über der Kulturflüssigkeit Bildung von Sporen erfolgt, die in die Nährlösung hineinfallen und so den ursprünglichen Typ „verunreinigen").

Mit Hilfe des Mikromanipulators kann man nicht nur Spaltungen nachweisen, sondern auch Kreuzungen von zwei Hefetypen oder sogar von zwei Hefearten vornehmen. Nebeneinander keimende Sporen neigen dazu, sich zu zweien zu verschmelzen. Die Abhandlung enthält interessante Bilder dieses Vorgangs bei einer Spore von Sacch. validus und einer Spore von Preßhefe. Mit Hilfe dieser Technik ist die Möglichkeit von Kreuzungen und damit der Herstellung neuer Hefetypen mit veredelten Eigenschaften gegeben. Dabei werden nicht nur morphologische Eigentümlichkeiten, sondern auch enzymatische Besonderheiten vererbt. Heuß (Berlin).

Segal, R. B., Die Wirkung der Fuselöle und ihrer Komponenten auf Hefe. (Mikrobiologie. Bd. 7. Folge I. 1938. S. 93—103.) [Russisch.]

Verf. studierte die Wirkung der Alkohole und Fuselöle von verschiedener Konzentration (Äthyl-, Butyl-, Isoamyl-, Propylalkohol usf.) auf den Gärungsprozeß der Hefe und ihre Vermehrung. Es wurde festgestellt, daß die schädliche Wirkung des Alkohols auf den Gärungsprozeß um so stärker auftritt, je höher der Alkohol in der homologen Reihe steht. Isoamylalkohol rief starke Hemmung des Gärungsprozesses schon bei einer Konzentration von 0,3% hervor, bei 0,6% hörte der Gärungsprozeß völlig auf; für Butylalkohol stellten sich dieselben Werte entsprechend auf 1,0 und 1,5%, für Propylalkohol auf 1,0 und 3,0—4,0%, für Äthylalkohol auf 5,0 und 12,0%; Fuselöle bewirkten eine starke Hemmung der Gärung bei einer Konzentration von 0,4% und ein völliges Aufhören dieser bei 0,7—0,8%. Das ähnliche Bild ließ sich auch in bezug auf das Wachstum der Hefezellen feststellen: Isoamylalkohol bewirkte starke Hemmung des Wachstums schon bei einer Konzentration von 0,1% und völliges Aufhören dieses bei einer solchen von 0,7%, Butylalkohol entsprechend bei 0,1 und 1,5% usw. Auch rief der Alkohol degenerative Veränderungen der Hefezellen hervor, die mit der Steigerung seiner Konzentration immer schärfer waren. Diese Veränderungen bestanden im wesentlichen in einem Verschwinden der Zellvakuolen und in einer Bildung von lang ausgestreckten, becherförmigen usw. Zellen, wobei dies sich meistens bei jungen Zellen beobachten ließ, während reife Zellen verhältnismäßig nur selten degenerative Erscheinungen aufwiesen. Die beschriebenen morphologischen und physiologischen Veränderungen der Hefezellen unter der Einwirkung der Alkohole verschwanden aber bei weiteren Generationen gänzlich, wenn ihre Kultur wieder auf gewöhnlichem Nährboden vorgenommen wurde. M. Gordienko (Berlin).

Hartelius, V. und **Nielsen, N.,** Ausschüttelung des Faktors Z und der Bios-Wuchsstoffe durch Hefe. (Biochem. Zeitschr. Bd. 298. 1938. S. 125—129.)

Würze enthält sowohl das die Zellvermehrung der Hefe fördernde Bios als auch den gärungsbeschleunigenden Faktor Z, dessen Wirkung bis etwa zur Hälfte absinkt, wenn die Würze mit Preßhefe oder Brauereihefe ausgeschüttelt wird. Anders verhält sich die Bioswirkung, die bei Verwendung von Brauereihefe wohl ebenfalls bis zur Hälfte sinkt, bei Verwendung von Preßhefe aber fast vollständig verschwindet. So ist es möglich, eine Würze zu erhalten, die keine Bioswirkung mehr, wohl aber noch eine Faktor Z-Wirkung entfaltet. Vergorene Würze verhält sich wie eine, die mit Brauereihefe ausgeschüttelt wurde. Die Aminosäuren, β-Alanin, Asparagin usw., die das Wachstum der Hefe fördern, haben offenbar keine Faktor Z-Wirkung. Bortels (Berlin-Dahlem).

Nielsen, N. und **Hartelius, V.,** Untersuchungen über die Wuchsstoffwirkung der Aminosäuren gegenüber Hefe. (Biochem. Zeitschr. Bd. 295. 1938. S. 211—225.)

Von 34 untersuchten Aminosäuren erwiesen sich 6, nämlich β-Alanin, Asparagin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Lysin und Arginin, als wachstumsfördernd für Hefe in einer Nährlösung, die neben anderem 5 γ Vitamin B_1 und 0,5 ccm Bierwürze enthielt. Die Aminosäuren, von denen β-Alanin die wirksamste ist, förderten das Wachstum jedoch nur, wenn sie der Nähr-

lösung nicht einzeln zugesetzt wurden. Andernfalls können sie giftig wirken. Das schon in äußerst geringer Menge wirksame β-Alanin kommt als Stickstoffquelle für Hefe nicht in Betracht und muß darum wohl als Wuchsstoff angesehen werden. Dasselbe gilt für Lysin. Arginin und Glutaminsäure können unter den gewählten Versuchsbedingungen ebenfalls als Stickstoffquelle keine Bedeutung haben. Deshalb liegt bei ihnen ebenfalls eine Wuchsstoffwirkung vor, nicht dagegen bei Asparagin und Asparaginsäure, die für Hefe besonders hervorragend geeignete Stickstoffquellen darstellen. β-Alanin kann durch β-Alanyl-Glycin nicht ersetzt werden.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Münder, H., Der Einfluß des Sauerstoffs auf die alkoholische Gärung. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 55. 1938. S. 221—224 und 228—230.)

Sämtliche Tier- und Pflanzenzellen kennen zwei Arten der exothermen Stoffzerlegung, um dadurch die zum Leben notwendige Energie zu schaffen, nämlich die Atmung und die Gärung. Die vorliegenden Ausführungen behandeln die Frage, ob die Gegenwart oder Abwesenheit von Sauerstoff den einen oder anderen Stoffwechseltypus hervorrufen oder begünstigen kann.

Über die so einfach erscheinende Frage gibt eine sehr umfangreiche Literatur Auskunft. Die wichtigsten Arbeiten auf diesem Gebiet werden vom Verf. zusammengestellt und gewürdigt. Heuß (Berlin).

Tausson, W. O., Die Umwandlung der Energie durch Mikroorganismen. VIII. Über die Menge der lebenden und abgestorbenen Zellen bei Schimmelpilzen. (Mikrobiologie. Bd. 7. Folge I. 1938. S. 75—86.) [Russisch.]

Die spezifische Verbrennungswärme sowie der Kohlenstoffgehalt bei jungem, sporenfreiem, sodann bei entwickeltem, sporenfreiem Myzel und bei Sporen von Aspergillus flavus zeigen große Unterschiede, was sich nämlich durch die Verschiedenheit in ihrer chemischen Zusammensetzung erklären läßt (vor allem in bezug auf Eiweiß, Fett und Kohlenhydrate). Geringe spezifische Verbrennungswärme und geringer Kohlenstoffgehalt bei entwickeltem, sporenfreiem Myzel weisen auf ein Vorkommen in diesem von vielen abgestorbenen Zellen hin. Auf Grund des festgestellten Verhältnisses zwischen der spezifischen Verbrennungswärme bei jungem, sporenfreiem, sodann bei entwickeltem, sporenfreiem und sporentragendem Myzel und bei Sporen von Asp. flavus schlägt Verf. eine Methode zur Bestimmung der Menge dieser im Schimmelpilz in verschiedenen Stadien seiner Entwicklung vor. Die Methode ergibt jedoch keine große Genauigkeit. Die Bestimmungen mittels der Methode bei 20tägigem Myzel von Asp. flavus (gezüchtet auf Nitratnährböden mit 2% Glukose bei 26—27°) ergaben etwa 50% Sporen, 20% lebenstätiger und 30% abgestorbener Zellen.

M. Gordienko (Berlin).

Perquin, L. H. C., Bijdrage tot de kennis der oxydatieve dissimilatie van Aspergillus niger van Tieghem. (Dissert. Delft 1938. 240 S.)

Um einen Einblick in die dissimilatorischen Reaktionen des Schimmelpilzes Aspergillus niger zu bekommen, war es notwendig, diese möglichst vollkommen getrennt von der Assimilation zu untersuchen. Das wurde erreicht durch Anwendung der sog. Schüttelmethode. Wenn diese auch Kulturmaßnahmen vorschreibt, die den natürlichen Lebensbedingungen des Pilzes nicht entsprechen, so ist es doch mit ihrer Hilfe möglich gewesen, zahlreiche vergleichbare Untersuchungen über die Dissimilation völlig getrennt von der Assimilation auf einheitlicher Basis durchzuführen. Die Nährlösungen wurden mit Sporenaufschwemmungen geimpft und während der Kulturdauer unter Einhaltung im einzelnen genau beschriebener Kulturbedingungen geschüttelt.

Es entwickelt sich dann ein Myzel, das aus einem homogenen Gemisch einzelner Zellen und kurzer Zellverbände besteht, und das abfiltriert, gewaschen und in jeweils gewünschter Dichte in neuer Nährlösung aufgeschwemmt werden kann. Mit solchen Myzelaufschwemmungen wurde festgestellt, daß die Bedingungen, unter denen das Myzel entsteht, auch dafür maßgebend sind, ob dieses Myzel imstande ist, den Zucker vollständig zu Kohlensäure und Wasser zu veratmen, oder ob es diesen zu Glukonsäure oder zu Zitronensäure oxydiert. Vor allem hat sich herausgestellt, daß das Myzel unter Phosphorsäuremangel heranwachsen muß, wenn es in der folgenden Dissimilationsphase Zitronensäure, und noch mehr, wenn es Glukonsäure bilden soll. Wenn man bedenkt, daß normalerweise das Glukosemolekül nach Phosphorylierung in zwei Hälften mit je drei Kohlenstoffatomen aufgespalten wird, dann wird es verständlich, daß der völlig andersartige Vorgang der unmittelbaren Oxydation zu Glukonsäure und auch der Zitronensäurebildung begünstigt wird, wenn es an dem für den ersteren Vorgang notwendigen Phosphor mangelt. Es wird gewissermaßen durch eine quantitative Enzymregulierung erreicht, daß die „Glukoseoxydase" die für die Glukonsäurebildung verantwortlich gemacht wird, und die „Citro-Glukoseoxydase" über das Katalysatorensystem der phosphorylierenden Glykolyse das Übergewicht bekommen. Es wird ausdrücklich betont, daß der zur Bildung von Glukonsäure und Zitronensäure führende dissimilatorische Stoffwechsel auf alle Fälle einen pathologischen Charakter trägt. Bortels (Berlin-Dahlem).

Nielsen, N. und Hartelius, V., Versuche über den Einfluß des β-Alanins auf das Wachstum von Aspergillus niger. (Biochem. Zeitschr. Bd. 296. 1938. S. 171—173.)

Das auf Hefe besonders stark als Wuchsstoff wirkende β-Alanin hat auf Aspergillus niger gar keinen Einfluß. Dadurch ist erneut bewiesen, daß der Wuchsstoffbedarf von Hefe ein ganz anderer ist als der von Aspergillus niger. Bortels (Berlin-Dahlem).

Nielsen, N. und Hartelius, V., Untersuchungen über die Wuchsstoffwirkung von β-Alanin, β-Alanyl-Glycin, Asparaginsäure, Glycyl-Asparaginsäure und verwandte Stoffe auf Hefe. (Biochem. Zeitschr. Bd. 296. 1938. S. 359—366.)

β-Alanin wirkt auf Hefe sehr stark giftig bei Abwesenheit von Asparagin oder Asparaginsäure, bei Anwesenheit dieser Aminosäuren jedoch nur schwach giftig. Eine Wuchsstoffwirkung des β-Alanins kommt nur dann zur Geltung, wenn in der Nährlösung außerdem Asparagin oder Asparaginsäure zugegen sind. Das Ausbleiben dieser Wirkung in Nährlösungen, denen eine der anderen Aminosäuren nicht zugesetzt wurde, beruht nicht auf der Giftigkeit des β-Alanins, sondern darauf, daß β-Alanin als Wuchsstoff unwirksam ist, wenn Asparagin oder Asparaginsäure fehlen. Da dieser Wuchsstoff nicht durch β-Alanyl-Glycin oder durch β-Oxypropionsäure ersetzt werden kann, beruht seine Wirkung auf den Aminosäuren selbst. Sie kann auch nicht auf etwaige Verunreinigungen zurückgeführt werden, weil die Stoffe, aus denen β-Alanin und Asparagin hergestellt wurden, unwirksam sind.
Bortels (Berlin-Dahlem).

Whelden, R. M., Changes observed in cultures of Aspergillus niger bombarded as spores with low voltage cathode rays. (Mycologia. Vol. 30. 1938. p. 265—268.)

Bei Versuchen, in denen Sporen von Aspergillus niger in einem Vakuum schwachen Kathodenstrahlen ausgesetzt wurden, erhielt Verf. nach der Aussaat dieser Sporen eine Kultur von strahlenförmigem Aussehen. Die Eigenschaft war nicht erblich. Außerdem entstand unter hunderten von Kulturen eine Mutante, die völlig verschieden von den Eltern war und sich durch mehrere Generationen erhielt. Beide Erscheinungen führt Verf. auf den Einfluß der Bestrahlungen zurück. Schultz (Berlin-Dahlem).

Shih, Lei, Über den Heterothallismus des Staubbrandes, Sphacelotheca cruenta (Kühn) Potter, der Mohrenhirse, Andropogon sorghum Brot. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 9. 1938. S. 167—192.)

Die Optimaltemperatur der Keimung der Brandsporen liegt zwischen 28 und 32° C, die Grenzen zwischen 8 bis 38° C. Das hohe Keimungsoptimum ist eine Anpassung an tropische Verhältnisse. Hohe Temperatur und Keimung in dest. Wasser bedingen Keimung der Brandsporen mit Hyphen; ebenso verhalten sich die Sporidien. Auch das Wachstum zeigt obige Temperaturabhängigkeit. In alter Kartoffel-Glukose-Agarkultur traten dickwandige, gebogene Dauersporen auf, die besser keimen als Sporidien und mit zahlreichen Sporidien keimen.

Der Pilz ist, wie Monosporidien-Isolierungen zeigten, geschlechtlich bipolar; die Faktoren verhalten sich wie 2 : 2. Die Geschlechtsfaktoren der 4 Sporidien werden in der ersten Reduktionsteilung abgespalten; die, ebenfalls vorhandenen, Faktoren der kulturellen Merkmale werden unabhängig von den Geschlechtsfaktoren vererbt. Der Kopulationsvorgang konnte durch verschiedenartige Färbung der Linien gut verfolgt werden; eine Unterscheidung der Geschlechter an sich war hierdurch jedoch nicht möglich.

Bei Keimlingsbeimpfung verursachen die Sporidien nur wenig Infektionen, jedoch nur die von gekreuzten Linien. Am empfänglichsten ist das Epicotyl des Keimlings; verletzte Pflanzen sind empfänglicher, auch die Radicula wird dann infiziert. Bei Einspritzungen erzielten ebenfalls nur gekreuzte Linien Infektionen. Auch der Hyphentypus konnte als Monosporidienlinie nicht infizieren, nur Hyphen von gekreuztem Material. Diese, der Erwartung des Verf.s entgegengesetzte Erscheinung, der von der Hyphenbildung an sich eine Vorbedingung zum Zustandekommen der Infektion erwartete, führt Verf. auf ungeeigneten Zeitpunkt der Impfung oder nicht genügend wirksames Impfmaterial zurück. Rippel (Göttingen).

Verona, O., A propos des causes microbiennes de dommage au papier et aux livres. (Soc. Intern. di Microbiol. Boll. della Sez. Ital. Vol. 10. 1938. p. 91—92.)

Als Urheber gewisser Schäden an verschiedenen Papieren, wie Flecken, Löcher usw. wurden Pilze, Bakterien und Cytophagen erkannt. Von ersteren werden auch einige neue Arten genannt: Phoma cartae n. sp., Coniosporium Perottianum n. sp. und Cephalosporium Ciferrii n. sp. Kurz erwähnt wird ferner, daß auch Untersuchungen angestellt wurden über die Wirkungsweise dieser Mikroorganismen, über die künstliche Erzeugung solcher Papierschäden unter Zuhilfenahme verschiedener Mikrobenkulturen und auch darüber, wie diese Schäden am besten zu vermeiden sind. Bortels (Berlin-Dahlem).

Iggena, M. L., Beobachtungen über die Wirkung des Lichtes auf das Wachstum von Blaualgen und Grünalgen. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 9. 1938. S. 129—166.)

Bei 18 Stämmen von Cyanophyceen, die aus den verschiedensten Gegenden der Erde isoliert waren, zeigte verschieden lange Beleuchtung keine Differenzierung in Lang- und Kurztagstypen. Einige, die zu kosmopolitisch verbreiteten Sammelarten gehören, zeigten indessen starke physiologische Unterschiede, so daß sie wohl physiologische Rassen ohne kosmopolitische Verbreitung darstellen. Bestrahlung mit Lichtmengen, die aus verschiedenen Zeiten und Intensitäten zusammengesetzt waren, ergaben keine Gültigkeit des Produktgesetzes; es sind in dieser Hinsicht spezifische Eigenschaften der einzelnen Arten vorhanden.

Bei verschiedenen Grünalgen hatte Darbietung gleicher täglicher Lichtmengen (12 Stunden Belichtungszeit) verschiedenen Einfluß, je nachdem die Lichtmenge kontinuierlich oder von Dunkelperioden unterbrochen, geboten wurde: Das Minimum der Vermehrung lag beim 1-Minuten-Intervall und stieg von da nach beiden Seiten bis zu einem Maximum beim 5-Sekunden- bzw. 12-Stunden-Intervall.

Bei den in dieser Hinsicht untersuchten Arten Chlamydomonas pseudococcum und Hormidium nitens förderte Zucker das Wachstum in allen, am stärksten aber in den niederen Lichtintensitäten. Als Ursache wird Förderung der Permeabilität des Protoplasmas für Glukose angesehen. In CO_2-freien Kulturen war der fördernde Einfluß des Zuckers am stärksten. Rippel (Göttingen).

Mikrobiologie der Nahrungs- Genuß- und Futtermittel.

Joachim, Die natürliche Sauerteigführung. (Ztschr. f. angew. Chemie. Bd. 51. 1938. S. 360.)

Griffig gemahlenes Roggenmehl, mit Stippen durchsetzt, ist ein guter Nährboden für Sauerteigbakterien und ergibt ein Brot von besonders geschätztem Geschmack. Durch die Erfindung der Reinzuchtsauer können die gefürchteten Gärungsentartungserscheinungen vermieden werden. Auch in der natürlichen Sauerteigführung läßt sich diese Gefahrenquelle auf natürlichem Wege ausscheiden, wenn der Anstellsauer nicht unmittelbar verarbeitet, sondern zunächst über einen Ruhe- und Regenerationsprozeß gekräftigt wird. Heuß (Berlin).

Kamenskij, K., Über die Ursachen der Gelbfleckigkeit des Weizenkorns. (Müllerei. Nr. 6. 1937. S. 44—45.) [Russisch.]

Weiß-gelblich bzw. gelblich gefleckte Weizenkörner entstehen oft unter dem Einfluß ungünstiger Witterungsverhältnisse während der Reifungsperiode (hohe Niederschlagsmengen usw.), manchmal tritt aber diese Erscheinung auch als Folge der Beschädigung des Korns durch eine Schildwanze (Eurygaster intergriceps Pu.) auf. Die letztere beschädigt Weizenkörner meistens im Stadium der Milchreife. Beim Stich scheidet Eu. intergriceps in dem Mehlkörper des Korns eine Flüssigkeit aus, die Stärkemehl und Kleber zersetzten, wodurch auf der Kornoberfläche eine gelbe Farbe entsteht. Die Backfähigkeit des Mehles aus dem stichhaltigen Korn ist stets vermindert; zu ihrer Verbesserung kann Zugabe von Kaliumbromat empfohlen werden. M. Gordienko (Berlin).

Bojko, E., Über das Dunkelwerden des Roggenkorns bei der Lagerung. (Müllerei. Nr. 6. 1937. S. 47—48.) [Russisch.]

Die Untersuchung des bei feuchter Lagerung dunkel bzw. braun gewordenen Roggenkorns ergab, daß diese Färbung durch verschiedene Mikroorganismen hervorgerufen wird. Es wurden isoliert: Bacillus niger, B. mesentericus fuscus, Aspergillus niger, Cladosporium herbarum und eine der Gruppe Flavobacterium herbicola nahestehende Art. In anderen Proben wurde der im Nährboden gelb-braunes Pigment hervorrufende Thytomous nigrofaciens (nach Chodakowsky) isoliert. Bei der Überführung des Korns in trockene Lagerräume (mit einer relativen Luftfeuchtigkeit von 50—60%) wird die Entwicklung der Bakterien stillgelegt; das für Saatzwecke bestimmte Korn kann auch durch Beizung mit Formalin, Kupfervitriol usw. vom Verderb gerettet werden. M. Gordienko (Berlin).

Zeetti, R., Ricerche batteriologiche sulla putrefazione della carne. [Bakteriologische Untersuchungen über die Fleischverwesung.] (Extr. Giorn. Batteriol. Immunol. Bd. 19. 1937. Nr. 4.)

Fleischstücke, teils in möglichst aseptischem Zustande, teils mehr oder weniger natürlich verunreinigt, wurden in Luft-enthaltendem und -freiem Raum bei Temperaturen von 0—60° gehalten und während des Verwesungsverlaufs bakteriologisch untersucht. Die Zahl der Mikrobenarten, die bei jeder Verwesung vorkommen, erwies sich sehr verschieden und mit der ursprünglichen Verunreinigung des Fleisches zusammenhängend; die Aufeinanderfolge der verschiedenen Phasen des Verwesungsverlaufes aber, von derselben Verunreinigung unabhängig. In luftenthaltendem Raum entwickeln sich zuerst vorwiegend fakultativ-aerobe Bakterien, welche später von den obligat-anaeroben ersetzt werden; endlich gewinnen die aeroben wieder die Oberhand und führen zur vollständigen Mineralisation der organischen Stoffe. Bezüglich des Gärungsvermögens wurde festgestellt, daß sich zuerst Misch-, dann Reinfermente entwickeln. In luftfreiem Raum verläuft der Vorgang auf ähnliche Weise, aber viel langsamer und unvollständiger. Die Minimal-, Optimal- und Maximalwerte der Temperatur sind 0—3°, 30—37° bzw. 55 bis 60°. Das Eindringen der Mikroben in das Fleisch geschieht fast ausschließlich durch das zwischen den Muskelfasern gelegene Bindegewebe. Die Fasern werden nur später befallen, wobei eine dünne Gewebsschicht durch Bakterien ersetzt wird. Die Eindringensgeschwindigkeit der Mikroben in das Fleisch ist die größte, wenn die Muskelfasern quer geschnitten sind, überschreitet jedoch bei 20° nicht 1,5 mm innerhalb 7—8 Tagen. Als neue Arten wurden isoliert: Bac. fruticosus, Bact. conglobatum und eine Art, die Bac. novyi sehr ähnlich ist. Pesante (Rom).

Shewan, J. M., The strict anaerobes in the slime and intestines of the haddock (Gadus aeglefinus). (Journ. Bact. Vol. 35. 1938. p. 397—407.)

Obligat anaerobe Bakterien wurden im Schleim von Schellfischen aus der Nordsee nicht gefunden, wohl aber in deren Eingeweiden. Es handelt sich um mehrere Clostridium-Arten und zwar Cl. putrificum oder Cl. lentoputrescens (Hartsell et Rettger) Cl. tetanoides A (?), Cl. tetani, das damit zum erstenmal in Eingeweiden von Fischen nachgewiesen worden ist, Cl. bifermentans (?) und Cl. sporogenes (?). Bortels (Berlin-Dahlem).

Dohlen-Tiedeman, W. v., and Hohl, N. J., Improved laboratory control of pasteurized milk. (Amer. Journ. publ. Health. Vol. 28. 1938. p. 629—632.)

Die bei der hygienischen Milchuntersuchung offiziell benutzten Proben geben über den eigentlichen hygienischen Zustand der Milch keine genügende Auskunft, da durch sie weder pathogene Bakterien noch wirksame Pasteurisierung nachgewiesen werden können. Die Plattenmethode, für sich allein angewendet, hat sich besonders unzuverlässig erwiesen, um den hygienischen Zustand pasteurisierter Milch nachzuweisen. Verff. stehen auf dem Standpunkt, daß die Ursache hierfür nicht bloß in der verschiedenen Zusammensetzung des Nährbodens, sondern auch in der ungünstigen Bebrütungstemperatur von 37° zu suchen ist (32° C wäre vorzuziehen). Auf der Suche nach anderen Verfahren prüften Verff. auch die Brauchbarkeit der Coliprobe und der Amylaseprobe zum Nachweis der Dauerpasteurisierung. Während sie die erstgenannte zum Nachweis wirksamer Pasteurisierung bzw. von nachträglicher Infektion sehr brauchbar fanden, erhielten sie mit der letztgenannten bei Vergleichsproben aus ein- und derselben Milch keine zuverlässigen Resultate. Mehr zu empfehlen ist die Phosphataseprobe nach Kay und Graham in der Modifikation von Gilcreas. Auf Grund ihrer Erfahrungen schlagen die Verff. zur Kontrolle der pasteurisierten Milch die Kombination folgender Proben vor: a) die Phosphatpseprobe zum Nachweis der genügenden Pasteurisierwirkung, b) die Coliprobe zum Nachweis evtl. nachträglicher Infektion der pasteurisierten Milch und c) die direkte mikroskopische Keimzählung zum Nachweis der Sorgfalt, mit der die Milch gewonnen und behandelt wurde. Wenn der Milchkontrolleur mit dem Ergebnis dieser Proben in der Hand eine Molkerei inspiziert, dann ist er leicht in der Lage, evtl. Betriebsstörungen und Unstimmigkeiten aufzuklären. Die Unzulänglichkeit der alleinigen Plattenzählung bei der Kontrolle pasteurisierter Milch wird zum Schluß an Hand einiger praktischer Beispiele aufgezeigt. K. J. Demeter (München-Weihenstephan).

Gunsalus, I. C., and Stark, C. N., Formate rizinoleate and brilliant green bile broths to detect coliform organisms in pasteurized milk. (Amer. Journ. of Publ. Health. Vol. 28. 1938. p. 832—834.)

655 Proben pasteurisierter Milch wurden an Hand der Gasprobe in Formiat-Rizinoleat-Bouillon auf das Vorhandensein von coliähnlichen Organismen untersucht. Bei 98% der „Vorproben" (sog. presumptive tests) konnte der Coli-aerogenes-Gehalt bestätigt werden, bei den übrigen 2% wurden langsame Laktosevergärer oder ähnliche Organismen gefunden. Weitere 221 Proben pasteurisierter Milch kamen zur vergleichenden Untersuchung mit Formiat-Rizinoleat- und Brillantgrüngalle-Bouillon. Im großen ganzen ergab sich dasselbe Bild. Die Brillantgrüngalle-Bouillon erbrachte zwar eine etwas höhere Anzahl von positiven Vorproben, von diesen waren aber einige auf das Wachstum anaerober Sporenbildner zurückzuführen. K. J. Demeter (München-Weihenstephan).

Matuszewski, T., Odbarwianie blekitu metylenowego przez Streptococcus thermophilus i Bacterium coli w mleku wyjalowionym. (Die Entfärbung von Methylenblau durch Streptococcus thermophilus und Bact. coli in sterilisierter Milch.) (Trav. et Compt. rend. T. 28. 1938. p. 189—220.) [Poln. m. engl. Zusfassg.]

Im Gegensatz zu den Erfahrungen mit Strept. lactis konnte bei Strept. thermophilus und Bact. coli beobachtet werden, daß der Beginn der Entfärbung zu einem späteren Stadium einsetzt, als bei der logarithmischen Wachstumsphase, nämlich während der maximalen stationären Phase. Diese Beobachtungen wurden gestützt durch den gleichzeitigen Nachweis höherer Azidität und eines ausgesprochenen Rückgangs des Wachstums am Ende der Entfärbungsperiode. Das Ausmaß

der Methylenblaufärbung erwies sich bei Bact. coli sehr empfindlich gegenüber Sauerstoffzutritt, und zwar in der Weise, daß die Entfärbung nur dann stattfand, wenn die Oberfläche der Milch durch eine Schicht von Paraffin-Öl von der Luft abgeschlossen war. Ohne diesen Abschluß trat Entfärbung nur in den tiefsten Partien der Milch auf. Der Sauerstoffbedarf des Bact. coli konnte weiterhin durch die Tatsache nachgewiesen werden, daß sich die Organismen vorzugsweise in den oberen Teilen der nicht durch Paraffinöl geschützten Milch anreicherten und daß die Fähigkeit, Wasserstoff zu aktivieren, schrittweise abnahm. Weiter ließen die Untersuchungen auch erkennen, daß bei Bakterienzellen zwischen bestimmten Funktionen eine positive Korrelation besteht, so z. B., daß immer ein größeres Wachstumsausmaß von einer stärkeren Aktivierung von Wasserstoff und einer kräftigeren Säuerung der Milch gefolgt ist. Dies gilt ganz besonders für die Frühstadien des Bakterienwachstums.

K. J. Demeter (München-Weihenstephan).

Holm, G. E., Wright, P. A., White, W., and Deysher, E. F., The keeping quality of butters. I. The rates of deterioration of butters made from creams of different acidities and stored at various temperatures. (Journ. of Dairy Sci. Vol. 21. 1938. p. 385—398.)

Die Butterproben aus Rahm verschiedener Azidität ließen sich einigermaßen einheitlich einreihen, wenn ihre Haltbarkeit durch die Sinnenprüfung und chemische Fettoxydationsnachweise vergleichend festgestellt wurde. In allen Fällen wurde kein Unterschied in der Beurteilung festgestellt bei Butterproben aus Rahm von 0,13—0,19% Säure bei den angewandten Aufbewahrungstemperaturen (20, 10, 0, —10 und —17° C). Dies bedeutet in anderen Worten, daß das Ausmaß der Verschlechterung von Süßrahmbutter und von Sauerrahmbutter aus Rahm von weniger als 0,20% Azidität praktisch gleich ist. Ob Butterproben aus Rahm mit einer etwas höheren Azidität als 0,20% sich ähnlich verhalten, war aus den Versuchen nicht zu ersehen. Butterproben jedoch aus Rahm mit einer Azidität von 0,30% und mehr besaßen eine geringere Haltbarkeit als solche aus Süßrahm. Im weiteren konnte eine ziemlich gute Übereinstimmung zwischen dem Ausmaß der Fettoxydation und der schlechten Beurteilung bei der Sinnenprüfung festgestellt werden. Fischgeschmack in Butter konnte dann beobachtet werden, wenn Säure vorhanden war und ganz besonders auch bei gleichzeitiger Oxydation durch Metallkatalyse. Eine wesentliche Verbesserung der Haltbarkeit bei der Lagerungstemperatur von —17° C im Vergleich zu derjenigen von —10° C konnte nicht in dieser Weise beobachtet werden, wie es der Fall war, wenn solche Intervalle bei höheren Temperaturen untersucht wurden.

K. J. Demeter (München-Weihenstephan).

Bogdanow, W. M., Über zähflüssige Säurewecker. (Mikrobiologie. Bd. 6. Folge 6. 1937. S. 805—807.) [Russisch.]

Zähflüssiger Säurewecker stellt eine Symbiose des Str. lactis mit einem zur Gruppe der Milchsäurebakterien nicht gehörenden Diplokokken dar. Die Symbiose erteilt dem Str. lactis bedeutend größere Lebensdauer, als dieser in Reinkultur besitzen kann. Bei langer Aufbewahrung des Säureweckers nimmt sein Säuregrad langsam ab und gleichzeitig beginnt die Peptonisierung des Eiweißes, die bis zur völligen Kaseinzersetzung gehen kann. Dabei gewinnt der Säurewecker den Käsegeruch, jedoch keinen bitteren Geschmack. Er besitzt hohe proteolytische Aktivität und kann bei der Käsebereitung Verwendung finden. M. Gordienko (Berlin).

Pijanowski, E. und **Supinska, J.**, Przyczynek do skladu chemicznego i mikrobiologicznego oraz do techniki wyrobu bryndzy owczej. (Beiträge über die chemische und bakteriologische Zusammensetzung und über die Herstellung von „Bryndza".) (Trav. et Compt. rend. T. 29. 1938. p. 291—322.) [Poln. m. engl. Zusfassg.]

Bryndza (= Brinsenkäse) ist ein hauptsächlich in den Karpathen hergestellter weicher Schafkäse. Nachdem der Bruch von Molke befreit ist, unterliegt er einer anfänglichen Reifung (sog. Bundz), worauf er zusammen mit gewöhnlichem Salz gemahlen und anschließend einer längeren Gärung unterworfen wird, während der er sein charakteristisches strenges Aroma erhält. Zur Untersuchung kamen 1 Probe im Anfangsstadium der Reifung vor dem Zermahlen (Bundz) und 3 Proben von fertigem Bryndza. Ergebnisse: Vom Gesamtstickstoff waren $^1/_3$ in löslicher Form (meist fällbar durch Phosphor-Wolframsäure) vorhanden, dazu unbedeutende Mengen von Amino- und Ammoniakstickstoff. Der Säuregrad betrug rund 2% Milchsäure, die flüchtigen Säuren entsprachen 20—60 ccm n/10 Alkali pro 100 g Käse (Verhältnis von Propionsäure und Essigsäure 3: 1). Das lösliche Eiweiß fand sich besonders in den äußeren Schichten des Bryndza-Käses. Die Mikroflora bestand im „Bundz" und in dem frischen Bryndza-Käse etwa zu 25% aus Milchsäure-Streptokokken vom Typ Str. lactis und Betacoccus und zu 75% aus Milchsäurelangstäbchen vom Typ Streptobact. plantarum, während in dem älteren Bryndza die Milchsäurelangstäbchen völlig vorherrschten. Auf der Oberfläche des Bryndza fanden sich Torula-Hefen, bewegliche Kurzstäbchen (Bact. linens-Typ) und Milchsäurelangstäbchen. Praktische Versuche unter Anwendung von Milchsäure-Streptokokken-Reinkulturen bei der Herstellung des „Bundz" ließen erkennen, daß auf diese Weise eine Qualitätsverbesserung des Bundz- bzw. des Bryndza-Käses zu erzielen wäre. K. J. Demeter (München-Weihenstephan).

Foltz, V. D., and **Martin, W. H.**, Comparison of tryptone-glucose-skimmilk and standard nutrient agars as media for determining the bacterial count in ice cream. (Journ. of Dairy Sci. Vol. 21. 1938. p. 289—294.)

Von rund 280 Proben Eiskrem aus dem Handel wurden die nach der Plattenmethode mit Standard-Nähragar und 2tägiger Bebrütung bei 37° C und mit Trypton-Glukose-Magermilchagar nach Bebrütung bei 37 und 32° C erhaltenen Keimzahlen miteinander verglichen. Der logarithmische Durchschnitt der Standardagarkeimzahlen bei 37° C war 96 500, die Ergebnisse mit Trypton-Glukose-Magermilchagar bei 37 und 32° C betrugen 137 bzw. 192% des mit Standardagar erhaltenen logarithmischen Durchschnittswertes. Das arithmetische Mittel der Standardagarzählungen betrug 5 490 000 und die diesbezüglich höheren Prozentsätze des Tryptonagars waren bei 37 und 32° C auf 132 bzw. 156% zu veranschlagen. Beim Vergleich der Verhältniszahlen zwischen den verschiedenen Werten (arithmetisches Mittel) ergab sich folgendes: Verhältnis Tryptonagar bei 32°: Standardagar bei 37° = 4,11: 1, Verhältnis von Tryptonagar bei 37°: Standardagar bei 37° = 2,46: 1.

K. J. Demeter (München-Weihenstephan).

Silbereisen, K., Die elektrische Ladung der Hefe und ihre Bedeutung für die Agglutination (Bruchbildung). (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 55. 1938. S. 153—160, 161—166, 171—176.)

Verf. gibt einen Überblick über die elektrokinetischen Erscheinungen der Kolloide unter besonderer Berücksichtigung der Mikroelektrophorese, und schildert die Methodik und die Bedingungen zur exakten Bestimmung des Ladungssinnes von Mikroorganismen, insbesondere von Hefezellen.

Untergärige Bierhefe und Bact. coli besitzen in verdünnter Kochsalzlösung eine negative Ladung; den gleichen Ladungssinn weisen die Hefezellen in Leitungs- und destilliertem Wasser auf. Durch Wasserstoffionen werden Colibakterien in dem Bereich zwischen $p_H = 2{,}49—2{,}16$, etwa bei $p_H = 2{,}2$ umgeladen. Bei unter- und obergäriger Brauereihefe liegt der Umladepunkt zwischen $p_H = 2{,}02—1{,}88$, etwa bei $p_H = 1{,}9$. Irgendwelche Unterschiede im elektrischen Verhalten der untergärigen Bruch- und der obergärigen Staubhefe liegen nicht vor. Mit Na- und Ca-Ionen gelingt eine Umladung von Colibakterien und Hefezellen nicht, wohl aber mit Al-Ionen. Hefezellen benötigen zur Umladung mit Aluminiumchlorid höhere Al-Konzentrationen als Colibakterien. Ober- und untergärige Hefe verhalten sich gegenüber dem Einfluß von Elektrolyten auf die Ladungsbeschaffenheit praktisch gleich. Eine durch Waschen mit alkalischen Mitteln von Schmutzstoffen befreite Hefe wird nach kurzer Vorbehandlung mit Eiweißlösungen (Albumin, Gelatine) durch Al- und H-Ionen leichter umgeladen als ohne diese Vorbehandlung. Weder bei Colibakterien noch bei Hefezellen läßt sich eine unmittelbare Beziehung zwischen Umlade- und Agglutinationspunkt (Flockung) feststellen. Während die Umladung auf einen kleinen Bereich ziemlich scharf begrenzt ist, nimmt der Flockungsvorgang einen verhältnismäßig breiten Raum ein. Flockungen können auch ohne Ent- bzw. Umladung der Zellen erfolgen. Unter- und obergärige Brauereihefe besitzt in Bierwürze eine negative Ladung. Eine Umladung durch Wasserstoffionen in der nicht gärenden Würze erfolgt erst im p_H-Bereich zwischen 3,38 und 2,95. Während der Gärung sowohl in gehopfter wie in ungehopfter Würze findet keine Entladung bzw. Umladung statt. Heuß (Berlin).

Reihling, K. I., Wachstumsversuche mit Dauerlupine. B. Bodenkundlicher Teil. (Mitt. d. Württ. Forstl. Versuchsanst. 1936. Heft 2. S. 58—90.)

Bei Versuchen zur Klärung der Voraussetzungen eines zuverlässigen Gedeihens von Dauerlupinen (Lupinus polyphyllus) auf verschiedenartigen Waldstandorten hat die Impfung der Lupinensamen „mit verschiedenen Bakterienimpfmitteln" eindeutige Ergebnisse zugunsten der Impfung hinsichtlich der Frischgewichte nicht erbracht. Worauf dieses Versagen zurückzuführen ist, läßt sich aus der Veröffentlichung nicht ersehen. Dennoch wird die Impfung auf meliorationsbedürftigen Böden empfohlen.

Stapp.

Virtanen, A. I., Saastamoinen, S., and Laine, T., On the factors influencing the excretion from the root noduls. (Suomen Kemistilehti B. Vol. 10. 1937. p. 28.)

Die sehr umstrittene Abscheidung von Stickstoff aus den lebenden Knöllchen in das umgebende Medium, wodurch gleichzeitig mit den Leguminosen gemischt angebaute Gräser und andere Nichtleguminosen mit Stickstoff versorgt werden sollen, ist, wie Verff. zeigen, stark abhängig von der Art und sogar von der Sorte der jeweils für den Versuch verwendeten Leguminose. Untersucht wurden Mischkulturen von Hafer mit Peluschken, Erbsensorten und Wicken, in denen der Hafer durch zwei Erbsensorten am stärksten,

durch eine dritte dagegen nur sehr schwach gefördert wurde. Peluschken und Wicke lagen in ihrer Wirkung zwischen diesen beiden Extremen. Mit diesen Feststellungen sollen die negativen Ergebnisse, die in dieser Frage von anderen Autoren erzielt wurden, z. T. erklärt werden.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Virtanen, A. I., and Laine, T., Excretion of l-aspartic acid from the root nodules of leguminous plants. (Suomen Kemistilehti B. Vol. 10. 1937. p. 32.)

Knöllchenbakterien sind in der Lage, aus l-Asparaginsäure durch Dekarboxylierung β-Alanin zu bilden. In Übereinstimmung hiermit wurde nunmehr gefunden, daß im Sand von Leguminosen-Gefäßkulturen zunächst nur Asparaginsäure nachweisbar ist, solange die Pflanzen noch jung sind. Später aber zur Reife derselben wird in den Sand vornehmlich β-Alanin abgeschieden. In einem Falle war die Ausscheidung von Asparagin und β-Alanin so stark, daß sie 75% des gesamten gebundenen Stickstoffs ausmachte. Es wird darum nochmals betont, daß die gefundene Asparaginsäure nicht das Produkt einer Eiweißatmung sein kann. Bortels (Berlin-Dahlem).

Jakes, E., Beitrag zum mikrobiologischen Problem der Leguminosen und Gramineen. (Sborník československé Akademie zemědělské. Nr. 5. 1937. S. 703—711.) [Tschechisch.]

Es wurde festgestellt, daß tote (bzw. schwach keimende) Leguminosensamen bei der Quellung Stoffe ausscheiden, die die Entwicklung der Bakterien fördern, während Gräsersamen die Entwicklung der Bakterien hemmende Stoffe ausscheiden. Dasselbe ließ sich auch in bezug auf Extrakte aus der Grünmasse der Leguminosen und Gräser feststellen.

M. Gordienko (Berlin).

Wilson, P. W., Effect of species of host plant on nitrogen fixation in Melilotus. (Journ. Agric. Res. Vol. 55. 1937. p. 619—629.)

Vier Melilotus-Arten wurden mit verschiedenen Stämmen von Rhizobium meliloti beimpft und auf ihre Fähigkeit, in Gemeinschaft mit diesen verschiedenen Bakterien den Luftstickstoff zu binden, untersucht. Das Ergebnis von 6 zu verschiedenen Jahreszeiten ausgeführten Versuchen ist, daß einige dieser Kombinationen von Wirtspflanzen und Bakterien immer zu guten Erfolgen führten, während gewisse andere Bakterien mit einer Wirtspflanzenart gut Stickstoff fixierten, mit anderen dagegen nicht. Auch der umgekehrte Fall wurde beobachtet, daß nämlich einige Melilotus-Arten von einigen Bakterienstämmen gut mit Stickstoff versorgt wurden, von anderen aber nicht. Abweichende Ergebnisse bei Wiederholung eines Versuches oder auch bei den Parallelen ein und desselben Versuches werden auf Schwankungen des Kohlenstoff-Stickstoff-Verhältnisses in den Pflanzen zurückgeführt. Durch diese Versuche wird die Bedeutung der Wirtspflanze bei der Beurteilung der Wirksamkeit eines Bakterienstammes erneut unterstrichen. Ein gegebener Stamm von Knöllchenbakterien ist also niemals hoch wirksam oder schwach wirksam im absoluten Sinne, sondern immer nur relativ unter Berücksichtigung aller Faktoren, welche die Symbiose beeinflussen. Unter gewissen Bedingungen mag der eine dieser Faktoren, etwa der Bakterienstamm, für die Höhe der Stickstoffbindung ausschlaggebend sein, unter anderen dagegen ein anderer Faktor, etwa die Art oder die Sorte der Leguminosen-Wirtspflanze. Bortels (Berlin-Dahlem).

Schädigungen der Pflanzen durch Pilze, Bakterien und filtrierbare Vira.

Lehmann, H., Ein weiterer Beitrag zum Problem der physiologischen Spezialisierung von Phytophthora infestans de Bary, dem Erreger der Kartoffelkrautfäule. (Phytopathol. Ztschr. Bd. 11. 1938. S. 121—154.)

Die Besonderheit der biologischen Spezialisierung von Phytophthora infestans besteht darin, daß sie, was bisher nur für wenige Beispiele zutrifft, erst dann offenbar wurde, als man auf widerstandsfähige, entfernter stehende Typen als Ausgangsmaterial für eine Resistenzzüchtung zurückgriff. Bisher sind 8 Biotypen isoliert worden. Die schwächste Wirkung besitzt der Biotyp 1, der von den 50 Testklonen nur 2 vollständig zu befallen vermag, während umgekehrt der Biotyp 8 47 Klone vollständig und die drei restlichen schwach befällt. Variationsstatistische Messungen der Sporangiengröße ergaben bei Wiederholung keine übereinstimmenden Ergebnisse, so daß Verf. glaubt, daß eine klare morphologische Abgrenzung der Rassen nicht möglich sein wird. Untersuchungen über das Verhalten der 8 Rassen auf Laub und Knollen von Kultursorten und Wildformen ergaben bei ersteren keine Unterschiede auf dem Laub; dagegen scheinen Knollen frühreifer Sorten empfänglicher zu sein als die spätreifender, ein Unterschied, der bei den Wildformen nicht festzustellen war. Weiter hatte es den Anschein, als ob Rasse 1 auf Knollen von Kultursorten von größerer Virulenz ist. In der Mehrzahl der Fälle zeigte sich auf dem Teilsortiment übereinstimmendes Verhalten zwischen Laub und Knollen (75% der untersuchten Fälle). Aus dem einheitlichen Verhalten der Kultursorten und der nach Einkreuzung mit einer Wildform entstehenden Spezialisierung schließt Verf., daß es sich um grundsätzlich verschiedene Ursachen und Faktoren der Widerstandsfähigkeit bei den Kulturformen und den Wildformen bzw. ihren Bastarden handelt. Bei Widerstandsfähigkeit der Kulturformen vermutet er lediglich ein ernährungsphysiologisches Problem, bei der der anderen dagegen ganz spezifische Hemmungsfaktoren. Bemerkenswert ist die Feststellung, daß das ursprünglich widerstandsfähige Wildsortiment gerade durch das Auftreten der letzten Rassen sehr stark zusammengeschrumpft ist und ebenso der Anteil widerstandsfähiger Formen unter den Nachkommen zwischen widerstandsfähigen Wildformen und Kulturformen nach Infektion mit einem Gemisch aller 8 Rassen außerordentlich stark zurückgeht. Braun (Berlin-Dahlem).

Lepik, E., Eine durch Sclerotinia sclerotiorum verursachte Kartoffelinnenfäule. (Phytopathol. Ztschr. Bd. 10. 1937. S. 234.)

Es wird über das massenhafte Auftreten einer äußerlich nicht erkennbaren Knolleninnenfäule an der Kartoffelsorte „Hero" in Estland berichtet, die nach Ansicht des Verf.s auf Befall durch Sclerotinia sclerotiorum zurückzuführen ist. Jedenfalls sind Myzel, Konidienträger, Konidien und Sklerotien dieses Pilzes in großer Menge in den Knollen gefunden worden, daneben freilich auch eine ganze Reihe anderer Parasiten. Infektionsversuche sind nicht ausgeführt worden. Braun (Berlin-Dahlem).

Benatar, R., Sobre uma nova mancha em epicarpo de „Citrus sinensis" Osbeck causada pelo Phoma Puttemansii n. sp. (Rodriguesia. Bd. 2. 1936. S. 306—312.)

In S. Paulo wurde im Jahre 1912 von Puttemans eine Krankheit an Apfelsinen beobachtet, die die Schale der Frucht in Mitleidenschaft zog.

Als Erreger wurde Phoma sp. ermittelt. Die gleiche Krankheitserscheinung konnte im Jahre 1936 im Staate Rio de Janeiro festgestellt werden, wo sie bis zu 5% Ausschußfrüchte hervorrief. Die Krankheit beginnt zur Zeit der Fruchtreife und äußert sich anfänglich in Form kleiner dunkelgrauer Flecke auf der Fruchtschale. Diese vergrößern sich bis sie etwa $^1/_3$ der Frucht erfassen und nehmen dann eine schwärzliche Färbung an. In diesem Stadium dringt das Myzel von der Schale aus in das Fruchtfleisch ein. Infektionsversuche mit verletzten Früchten der Sorte „Pera" ergaben ein positives Ergebnis, dagegen verliefen derartige Versuche an unverletzten und noch am Baum hängenden Früchten, auch bei Verletzung der Fruchtschale, stets negativ. Bisher sind zwei Phomaarten bekannt, die ausschließlich die Fruchtschale von Citrus sinensis befallen: Ph. aurantiiperda Rugieri und Ph. citricarpa McAlpine; beide weisen jedoch deutliche Unterschiede von der hier vorliegenden Art auf. Auf Grund des makroskopischen wie des mikroskopischen Befundes handelt es sich unzweifelhaft um eine neue Art, für die folgende Diagnose gegeben wird:

Phoma Puttemansii n. sp. Mycelio initio albo postea olivaceo-nigro, septato, toruloso; picnidiis erumpentis, pseudo stromaticus, sparsis vel greagariis, generatim in ectocarpa inclusis, rarius in mesocarpo, sub-globosis vel ellipsoideis, atris, ostiolo minuti, magnitudine variabili 210—90 × 100—50 μ; sporulis ellipsoides vel oblongo-ovatis utrimque obtuso-rotundatis 13—6 × 7—4,5 μ, unica guttula magna olivacea praeditis.

M. Klinkowski (Berlin-Dahlem).

Rombouts, J., Uma molestia de „Eucalyptus" e de „Populus" na Bahia, causada por „Corticium salmonicolor" B. et Bred. (Rodriguesia. Bd. 2. 1936. S. 301—305.)

An feuchten Standorten und an beschatteten Pflanzen von Eucalyptus und Populus wurde in Agua Preta in den Jahren 1935 und 1936 eine Krankheit beobachtet, die bei beiden Bäumen durch den gleichen Erreger hervorgerufen wurde. Die Krankheit äußert sich bei Eucalyptus anfänglich durch Welken der Blätter in der unteren Baumhälfte. Später vertrocknen diese und bleiben noch lange Zeit am Baum hängen, ähnlich den „Fledermausblättern" bei Tectonia grandis. Die Zweige und der Stamm selbst können in Mitleidenschaft gezogen werden und zuweilen stirbt der ganze Baum ab. Im ersten Krankheitsstadium sieht man dunkle Flecken auf der Rinde, der darunter befindliche Bast wird gleichfalls angegriffen, das Holz erscheint jedoch völlig normal. Später reißt dann die Rinde der Länge nach auf, es entstehen Risse, die durch Kallusbildung ein krebsartiges Aussehen gewinnen. Bei Populus nigra sind die Schädigungen vornehmlich auf den oberen Teil des Baumes beschränkt. Rindenrisse und Kallusbildung sind hier nur selten. Nur bei der Pappel begegnet man einer Entwicklungsform des Pilzes, die als „Höckerform" bezeichnet worden ist. Das Myzel, das sich außen auf der Rinde ausbreitet, bildet an der Stelle der Lentizellen kleine Polster. Diese Polster sind keine reinen Myzelbildungen, sondern entstehen durch abnorme Teilung des Phellogens der Lentizellen, eine Reaktion, die durch den eindringenden Pilz ausgelöst wird. Der Erreger dieser beiden Krankheiten ist Corticium salmonicolor, dessen Wirtspflanzenkreis 149 Arten umfaßt. Der Schädigungsgrad ist bei den einzelnen Arten jedoch sehr verschieden. Zur Bekämpfung der Krankheit wird geraten, alle befallenen Zweige abzuschneiden und zu verbrennen. Tritt die Krankheit am Stamm auf und besteht Aussicht, den Baum noch zu retten, so ist dieser mit einer 20proz. Karbolineumlösung zu behandeln.

M. Klinkowski (Berlin-Dahlem).

Honecker, L., Die Bestimmung der physiologischen Rassen des Gerstenmehltaues (Erysiphe graminis hordei Marchal). (Phytopathol. Ztschr. Bd. 10. 1937. S. 197—222.)

Bei der Prüfung der biologischen Spezialisierung von Erysiphe graminis auf Gerste in Deutschland stellte sich heraus, daß das von Mains und Dietz vorgeschlagene Testsortiment keine befriedigenden Ergebnisse ergab. Verf. hat deshalb ein neues zusammengestellt, das aus 5 Grundsorten und 3 Ergänzungssorten besteht. Für die Bonitierung des Befalls ist ein 7 Infektionstypen und 7 verschiedene Farb- und Strukturveränderungen umfassendes Schema ausgearbeitet worden. Für die Anzucht des Testsortiments und die Durchführung der Bonitierung werden genaue Vorschriften gegeben. Nach diesem Verfahren wurden in den Jahren 1933—1936 insgesamt 101 Mehltauherkünfte untersucht, aus denen bisher 9 deutlich verschiedene physiologische Rassen A—J isoliert werden konnten. A wird als Hauptrasse bezeichnet, die in sämtlichen Herkünften weitaus vorherrschte und die in jüngster Zeit besonders häufig auftretenden Mehltauepidemien verursachte. Mit ihr nur in Spuren vermischt, aber ebenfalls weit verbreitet sind die Rassen B und D, die bei Einführung A-immuner Sorten zum Großanbau sich deshalb leicht stärker anreichern können. Die übrigen Rassen wurden nur ganz vereinzelt gefunden. Braun (Berlin-Dahlem).

Klebahn, H., Untersuchungen über die Krankheiten des Meerrettichs. II. (Phytopathol. Ztschr. Bd. 10. 1937. S. 121—167.)

Verf. hat sich vor allem mit der Schwärzekrankheit beschäftigt und neben der bekannten gummiartigen Substanz Bakterien und verschiedentlich auch Verticillium gefunden, das er als V. armoraciae bezeichnen möchte, weil er es nicht für identisch mit V. dahliae hält. Die gefundenen Pilze und Bakterien hält er für die wahrscheinliche Ursache der Schwärzekrankheit, ohne freilich den schlüssigen Beweis erbringen zu können. Die Schwierigkeit der einwandfreien Klärung der Frage liegt offenbar in der fast allgemeinen Verseuchung der Bestände durch die ausschließlich vegetative Vermehrung, so daß einwandfrei gesundes Ausgangsmaterial kaum zu erhalten ist. Versuche mit Cystopus candidus ergaben, daß dieser Pilz offenbar vom Meerrettich auf Capsella übergehen kann; ob aber auch das Umgekehrte der Fall ist, konnte noch nicht entschieden werden. In einem Schlußabschnitt werden Vorschläge für die Bekämpfung der Schwärzekrankheit gemacht, unter denen sorgfältigste Prüfung der Setzlinge und Anbau auf Boden, auf dem möglichst lange kein Meerrettich angebaut worden ist, an erster Stelle genannt werden. Braun (Berlin-Dahlem).

Defago, G., Cryptodiaporthe castanea (Tul.) Wehmeyer, parasite du chataignier. (Phytopathol. Ztschr. Bd. 10. 1937. S. 168—177.)

Cryptodiaporthe castanea (Tul.) Wehmeyer rief in einer Baumschule bei Monthey (Valais) Eingehen eines Teils der jungen Kastanienbäume während der ersten beiden Jahre nach der Pflanzung hervor. Die Perithezien stimmten mit den Angaben von Wehmeyer, die Pykniden mit denen von Tulasne überein. Die Zusammengehörigkeit beider Stadien konnte durch Isolierung von Monoasco- und -pycnosporen und künstliche Infektionen sichergestellt werden. Letztere ergaben auch, daß die Haselnuß von dem Pilz nicht befallen werden kann. Das Eindringen erfolgt wahrscheinlich durch

Wunden oder durch abgestorbene Knospen. Auf kräftigeren Stämmen kommt die Krebsbildung oft durch Kallusentwicklung ganz zum Stillstand, es sei denn, daß äußere Faktoren die Widerstandsfähigkeit der Pflanze geschwächt haben. Aus den Beobachtungen lassen sich die Bekämpfungsmaßnahmen unschwer ableiten. Braun (Berlin-Dahlem).

Harter, L. L., A root rot of peas caused by Fusarium coeruleum. (Phytopathology. Vol. 28. 1938. p. 432—438, 1 fig.)

Fusarium coeruleum, bisher als Parasit bei Erbsen noch nicht festgestellt, erwies sich als Erreger einer Wurzelfäule der Erbse. 24 verschiedene Erbsensorten, die in künstlich infizierten Boden gepflanzt wurden, waren sämtlich anfällig. Nur Cajanus indicus war immun. Die für die Entwicklung des Erregers günstige Temperatur sagt auch der Wirtspflanze zu. Winkelmann (Münster i. W.).

Richter, H. und **Klinkowski, M.** Wirtelpilz-Welkekrankheit an Luzerne und Esparsette. (Nachrichtenbl. f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. 18. Jahrg. 1938. S. 57—58, 2 Abb.)

Die durch den Wirtelpilz Verticillium albo-atrum verursachte Welkekrankheit konnte bereits an über 70 Gattungen nachgewiesen werden. Die Liste der Wirtspflanzen dieses Pilzes weist allerdings nur wenige Leguminosen auf. In den letzten Jahren wurde der Erreger in erkrankten Beständen von Luzerne (Medicago sativa L.) in der Nähe von Bonn gefunden. Ferner wurde die Verticilliose in Berlin-Dahlem an Esparsette (Onobrychis sativa Lam.) beobachtet. Um feststellen zu können, ob es sich bei der Luzernewelke um einen Einzelfall handelt oder ob sie weiter verbreitet ist, bitten Verff. um Einsendung von verdächtigem Material an die Biologische Reichsanstalt Berlin-Dahlem.

Winkelmann (Münster i. W.).

Braak, J., P., Een Verticillium aantasting van Brusselsch lof. [Eine Verticillium-Krankheit der Zichorie.] (Tijdschr. o. Plantenz. 1938. S. 165—170.)

Obwohl die Zichorie (Cichorium intybus L.), besonders die Brüsseler Sorte „Witloof" in den niederländischen Gärtnereien einen hervorragenden Platz einnimmt, wurden bei dieser Pflanze bis jetzt nur ausnahmsweise Krankheiten wahrgenommen. Um so überraschender ist daher die Tatsache, daß Verf. zu gleicher Zeit von zwei Stellen krankes Material bekam, woraus der Pilz Verticillium Dahliae Kleb. isoliert werden konnte. Das Anfangsstadium der Krankheit äußerte sich Anfang Oktober durch eine gewisse Stauchung der Pflanzen, mit Auftreibungen der Blattspreite zwischen den Nerven, welche rote Streifen zeigten. Ende Oktober waren die unteren Blätter verwelkt und gelb, mit abgestorbener brauner Spitze und braunem Blattrande.

Querschnitte durch die Wurzeln zeigten viele mit Gummi gefüllte braune Zellen, zwischen denen sich farblose Zellen befanden, worin die Myzelfäden des Pilzes zu sehen waren. Anscheinend tritt der Pilz durch die Wurzeln in die Pflanze ein. Aus dem kranken Material wurde das Mikrosklerotien bildende Verticillium Dahliae Kleb. isoliert. Infektionsversuche mit diesem Pilze an Blättern der Pflanze ergaben positive Resultate. Die Bekämpfung der Krankheit wurde nicht näher studiert.

van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Voorhees, R. K., Eye-spot disease of Napier grass. (Phytopathology. Vol. 28. 1938. p. 438—443, 3 figs.)

Als Errger der Augenfleckenkrankheit von Pennisetum purpureum wurde Helminthosporum ocellum festgestellt.

Winkelmann (Münster i. W.).

Dunegan, J. C., The rust of stone fruits. (Phytopathology. Vol. 28. 1938. p. 411—427, 2 figs.)

Der Pilz Tranzschelia pruni-spinosae (Pers.) ist der Erreger einer wichtigen Krankheit von Prunus-Spezies auf der ganzen Welt. Beim Pfirsich war die Krankheit zuerst auf die Blätter beschränkt, unter bestimmten Bedingungen ging sie aber auch auf die Früchte über. Bei näheren Untersuchungen zeigte sich, daß Uredosporen von kultivierten Arten die Blätter vom Pfirsich, jedoch nicht die Blätter von Wildarten von Prunus infizierten. Andererseits riefen Uredosporen von Wildarten von Prunus keine Infektionen auf Pfirsichblättern hervor. Ähnlich verhielt es sich mit Azidien von Wild- und Kulturarten von Anemone. Die Untersuchung an 389 Herbarproben ergab, daß die Teleutosporen von Kultur- und Wildarten von Prunus morphologisch voneinander verschieden sind. Verf. hält es daher für erforderlich, 2 Formen des Pilzes zu unterscheiden, die die Bezeichnungen Tranzschelia pruni-spinosae typica und T. pruni spinosae discolor führen. Winkelmann (Münster i. W.).

Went, J., C., Verslag van de Onderzoekingen over de Iepenziekte, verricht op het Phyt. Lab. „Willie Commelin Scholten" te Baarn gedurende 1937. (Bericht über die Ulmenkrankheit im Jahre 1937.) (Tijdschr. o. Plantenz. 1938. S. 141—160.)

Verf.n gibt einen ausführlichen Bericht über den Stand der Bekämpfung der Ulmenkrankheit und über die Versuche mit Sämlingen verschiedener Herkunft, erläutert durch zahlreiche Tabellen.

van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Burger, F. W., Iepensterfte in Nederland. (Ulmensterben in den Niederlanden.) (Tijdschr. o. Plantenz. 1938. S. 177—205.)

Verf. gibt an der Hand von mehreren statistischen Tabellen einen Überblick über das Vorkommen und die Ausbreitung der Ulmenkrankheit, verursacht durch Ceratostomella ulmi (Schwarz) Buisman. Aus dieser Arbeit geht hervor, daß trotz der energischen Bekämpfung der Krankheit, wodurch es gelungen ist, die Ausbreitung vorläufig zu hemmen, die einst schönen und wertvollen Bestände fortgesetzt der Gefahr der Vernichtung ausgesetzt sind. Es ist daher unbedingt geboten, soll nicht die Ulme auf die Dauer aus dem Stadtbild und aus den Wäldern verschwinden, die Arbeiten über resistente Ulmenarten fortzusetzen und die Richtlinien zu befolgen, welche von der zu früh entschlafenen Dr. Buisman angegeben worden sind. van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Koning, Henriette, C., The bacterial Canker of Poplars. [Bakterien-Krebs bei Pappeln.] (Meded. Phyt. Lab. „Willie Commelin Scholten", Baarn, Deel 14. 1938. S. 1—38, mit 2 Taf.)

Eine in den Niederlanden, Belgien und Nord-Frankreich weit verbreitete Krankheit ist der Bakterienkrebs der Pappeln. Diese Krankheit unter-

scheidet sich von dem bekannten Nectria-Krebs durch schleimige Ausscheidungen aus den Lentizellen im ersten Stadium der Krankheit, durch unregelmäßige, bröcklige Struktur der Kallus-Auswüchse und durch die engen Spalten, welche im Holz und in der Rinde gebildet werden. Als Ursache der Krankheit wurde ein Bakterium isoliert, welches als Pseudomonas rimaefaciens n. sp. beschrieben wurde. Vor allen Dingen werden die Varietäten Populus brabantica Houtz., P. trichocarpa Torr. et Gray und P. candicans Ait. leicht angegriffen.

van Beymathoe Kingma (Baarn).

Gigante, R., Esperienze sulla trasmissibilità della „necrosi del cuore" dei tuberi di patata. [Untersuchungen über die Übertragbarkeit der „Herznekrose" der Kartoffelknollen.] (Boll. R. Staz. Pat. Veg. Rom. Jahrg. 17. 1937. Nr. 3, S. 277—292.)

Verf. hat drei Versuchsreihen hergestellt, um auf folgende Fragen Antwort zu geben: 1. Wie die Krankheit in den darauffolgenden Generationen verläuft; 2. ob die Krankheit auch durch scheinbar gesunde Knollen kranker Pflanzen übertragbar sei; 3. ob es möglich ist, die Krankheit durch künstliche Infektion zu übertragen. Für die ersten zwei Versuchsreihen wurde die Sorte Böhms Allerfrüheste Gelbe, für die dritte Reihe außer dieser auch die Sorten Noordeling und Paul Krüger verwendet. Die Resultate dieser Versuche sind folgende: Die Herznekrose ist eine durch kranke Knollen sich fortpflanzende Krankheit; die fortdauernde Reproduktion durch kranke Knollen verschlimmert die Krankheit und führt zu einer Verringerung der Produktion. Auch durch scheinbar gesunde Knollen kranker Pflanzen tritt die Krankheit, wenn auch in schwächerer Form (6—7% sichtbar kranker Knollen) hervor. Es ist nicht gelungen, die Krankheit auf gesunde Kartoffeln und andere Solanaceen zu übertragen, weder durch Laubpfropfung, noch durch Laub-Saftimpfung; sie ist wohl manchmal gelungen durch Knollenpfropfung und durch Knollen-Saftimpfung, nämlich bei (der Infektionsgrad ist in prozentiger Zahl sichtbar kranker Knollen der darauffolgenden Generation ausgedrückt):

Paul Krüger, gesunde Knollen durch Knollenpfropfung mit kranken Böhms	2%
Paul Krüger, gesunde Knollen durch Knollenpfropfung mit scheinbar gesunden Böhms	0%
Noordeling gesunde Knollen durch Knollenpfropfung mit kranken und mit scheinbar gesunden Böhms	0%
Böhms gesunde Knollen durch Knollenpfropfung mit kranken und mit scheinbar gesunden Böhms	0%
Böhms gesunde Knollen mit Saft kranker Knollen von Böhm. . . (Ein im Jahre 1936 durchgeführter Versuch mit der Sorte Juli, auch mit Saft kranker Böhms Knollen, ergab eine Erkrankung von 20%.)	3%
Böhms gesunde Knollen mit Saft von Böhms scheinbar gesunden Knollen	2%

Nach Verf.s Meinung ist die Herznekrose eine Viruskrankheit. Sie ist von der Eisenfleckigkeit verschieden, weil, während in dieser große und kleine Knollen ebenso leicht befallen werden können, in der Herznekrose nur, oder fast nur große Knollen befallen werden; außerdem geschieht bei der Eisenfleckigkeit die Übertragung der Krankheit durch Knollenpfropfung viel leichter als bei der Herznekrose. Pesante (Rom).

Abgeschlossen am 9. November 1938.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 99. No. 18|23.
Ausgegeben am 6. Januar 1939.

Nachdruck verboten.

Die Stabilität der Gärungssilage.

[Aus der bakteriologischen Abteilung der Staatlichen Landwirtschaftlichen Versuchsstation Hoorn, Niederlande.]

Von **J. van Beynum** und **J. W. Pette.**

Mit 14 Abbildungen im Text.

1. Einleitung.

Die Konservierung in feuchtem Zustande des im Sommer geernteten Grünfutters, welche bekanntlich so ausgeführt wird, daß man frisches oder abgewelktes Futter in Silos oder Erdgruben mittels Lehm oder Ton luftdicht abschließt, war schon oft Gegenstand wissenschaftlicher Untersuchungen. Diese Untersuchungen zerfallen in zwei Gruppen, nämlich:

1. in diejenigen, welche sich hauptsächlich auf den Futterwert beziehen und wobei die Verluste an Trockensubstanz und an einzelnen wertvollen Bestandteilen bestimmt werden und

2. in die bakteriologischen Untersuchungen, bei denen man sich bemüht hat, die Gärungsprozesse im Futter klarzulegen.

Die bakteriologischen Untersuchungen beschäftigen sich hauptsächlich mit der Milchsäuregärung, welche im Futter stattfindet. Man legt auf diese Milchsäuregärung deshalb sehr großen Wert, weil die entstehende Säure konservierend wirkt. Da im allgemeinen die Konservierung besser gelingt, je höher der Säuregrad ist, hat man versucht dem Futter Stoffe zuzusetzen, die entweder selbst den erforderlichen Säuregrad zustande bringen, wie z. B. Salzsäure, Schwefelsäure, Ameisensäure und Penthesta oder solche, wie Zucker, aus welchen die Säure durch die Wirkung der Bakterien entsteht.

Außer der Milchsäuregärung kennt man in Silage auch die Buttersäuregärung, aber von dieser Gärung ist nicht viel bekannt. Da die Buttersäuregärung als eine für Silage unerwünschte Gärung betrachtet wird, bestimmt man bei Untersuchungen von Silagen fast immer den Gehalt an Buttersäure.

Die Buttersäuregärung im Futter ist nicht nur ein Nachteil für die Käsebereitung, sondern auch für die Qualität des Grünfutters selbst, wie man allgemein annimmt.

Viele stellen die Buttersäuregärung der Milchsäuregärung gegenüber als eine „falsche" Gärung dar.

In dieser Abhandlung wollen wir den Zusammenhang zwischen Milchsäure- und Buttersäuregärung näher besprechen. Wir betrachten also in erster Linie die Silagen, in welchen eine ungehemmte Bakterienentwicklung möglich ist. Wenn man nämlich anorganische Säuren zufügt, kann diese Entwicklung stark herabgesetzt werden. Schon früher haben wir diese Silierungsart eingehend studiert (1). Auch Temperatursteigerung kann auf das Wachstum der

Bakterien einen großen Einfluß ausüben. Durch geeignete Maßnahmen beim Ensilieren ist es immerhin möglich, die Temperatur sehr hoch ansteigen zu lassen. Da diese hohe Temperatur in der abgeschlossenen Futtermasse lange erhalten bleiben kann, ist in einer solchen selbsterhitzten Silage eine bakterielle Tätigkeit nicht möglich.

2. Die erste Phase der Bakterienentwicklung.

Wenn also keine die Entwicklung hemmenden Stoffe zugefügt sind und die Temperatur im Futter niedrig bleibt, beobachtet man schon bald ein lebhaftes Bakterienwachstum in dem aus den Pflanzen heraustretenden Saft. Diese im Anfang wachsenden Bakterien sind zum größten Teil aerobe Bakterien und unter ihnen gibt es viele gelatineverflüssigende Arten. Schon in dieser Periode muß also eine Eiweißzersetzung stattfinden. Lange bleibt diese aerobe Flora aber nicht bestehen, denn die Bedingungen für ihre Entwicklung werden immer ungünstiger. Bekanntlich verschwindet der Sauerstoff durch die Atmung der Pflanzen und die Wirksamkeit der aeroben Bakterien ziemlich bald, wodurch ihr weiteres Wachstum unmöglich wird. Die jetzt entstandene sauerstofffreie junge Silage ist wegen der Anwesenheit von Zucker und Eiweiß ein sehr guter Nährboden für anaerobe Bakterien. Unter diesen Bedingungen kann man also nur Wachstum erwarten von: Milchsäurebakterien, Coli-ähnlichen Bakterien, Buttersäurebakterien und Fäulnisbakterien.

Die zwei erstgenannten Arten bilden keine Sporen, wohl aber die letzten zwei und sie kommen gerade in der Sporen-Form auf dem frischen Futter vor.

Weil diese Sporen einige Zeit brauchen um zu keimen, fangen die Milchsäurebakterien und die Colibakterien am ersten an, sich zu vermehren. Dies wird noch begünstigt durch die Tatsache, daß diese Bakterien auch bei Anwesenheit von Luft wachsen können. Man findet sie schon zwischen den der ersten aeroben Flora. Nach einiger Zeit kommen deshalb nur noch Milchsäurebakterien und Colibakterien vor. Wegen Mangel an Zucker oder wegen der Säurewirkung werden nachher auch die Bedingungen für die Entwicklung der Colibakterien stets ungünstiger und findet man nach ziemlich kurzer Zeit nur noch Milchsäurebakterien.

Man kann diese Folge der Bakterienflora sehr gut beobachten, wenn man Gras in gläsernen Behältern ensiliert mit viel Wasser (z. B. 500 g Gras und 200 cm^3 Wasser). Das Wasser bei diesen Versuchsensilierungen dient dazu, die Luft zu vertreiben (was 1 oder 2 Tage dauert) und der Masse eine gleichmäßige Zusammensetzung zu verleihen. Das Gras in den Gefäßen wird dabei mit einem Bleigewicht von 10 kg zusammengepreßt (Durchmesser der Gläser 10 cm) und damit die Flüssigkeit in den Zylindern nicht mit Blei in Berührung käme wurde das Gewicht auf einen Paraffinblock gestellt. Wenn nach einiger Zeit der Saft über das Gras gestiegen ist, wird er mittelst Paraffinöls von der Luft abgeschlossen. Bei auf diese Weise eingestellten Versuchsensilierungen wurde auch wirklich die theoretisch abgeleitete Folge der Bakterienflora gefunden. Auf den Kulturplatten erschienen beim Älterwerden der Silage also in der Reihenfolge:

1. Eine heterogene Flora von aeroben Bakterien, hauptsächlich gelatineverflüssigenden.
2. Coli- und Milchsäurebakterien, zwischen den aeroben Bakterien.
3. Nachher nur Milchsäurebakterien und Coli.
4. Schließlich nur Milchsäurebakterien.

Diese Folge der Bakterienentwicklung nennen wir insgesamt die erste Phase. Wir betrachten also die Milchsäuregärung als zu der ersten Phase gehörend.

3. Die Milchsäuregärung.

Frischer Grassaft reagiert schwach sauer. Wir fanden p_H-Werte von ungefähr 6,0. In der ersten Phase wird das p_H allmählich niedriger, wie man aus Tabelle 1 sieht, wo ein günstiges Beispiel einer guten Milchsäuregärung aus unseren Versuchsensilierungen gegeben wird.

Tab. 1. 600 g Gras und 150 ccm Wasser, eingestellt am 23. Sept. 1935.

Tage:	1	3	4	5	7	8	10	14
p_H	6,01	4,29	4,14	4,02	3,94	3,90	3,89	3,78

Diese p_H-Erniedrigung wird von den Milchsäurebakterien verursacht, denn der Gehalt an Milchsäure (bestimmt durch Titrierung des Ätherextraktes unter Abzug der mitaufgelösten flüchtigen Säuren), der im frischen Gras-Flüssigkeitsgemisch ungefähr 0.1% beträgt, steigt stark an, wie Tabelle 2 beweist.

Tabelle 2.

Anfangsdatum der Versuchsensilierung	Probenahme n. Anzahl Tage	p_H	Milchsäure in %
4. Okt. 1935	5	3,99	1,50
	10	3,84	1,74
	15	3,87	2,06
	25	3,73	2,13
7. Mai 1935	3	4,63	0,97
	13	4,25	1,54
26. April 1935	3	4,50	1,10
	10	4,25	1,50

4. Die Konservierung.

Wir sehen also, daß durch die Milchsäuregärung der Säuregrad sehr hoch steigen kann. Dies ist sehr wichtig für die Konservierung.

Unter Konservierung verstehen wir das Erhaltenbleiben organischer Substanz, welche in der Natur durch Bakterientätigkeit zersetzt werden kann. Die Eiweißstoffe sind allerdings die wichtigsten Stoffe, die beim Ensilierungsprozeß erhalten bleiben sollen (Futterwert). Unter den anaeroben Umständen der Silage können die Eiweißstoffe nur von den Fäulnisbakterien zersetzt werden zu für die Fütterung minderwertigen oder wertlosen Produkten (z. B. Ammoniak). Bei einer richtigen Konservierung soll also die Wirkung der Fäulnisbakterien verhindert werden.

In der Silage muß das durch die entstehende Säure geschehen, weil die Fäulnisbakterien hohe Säuregrade nicht vertragen können. Wenn also das p_H in der ersten Phase sinkt bis auf einen Wert, niedriger als das Minimum-p_H für die Entwicklung der Fäulnisbakterien, so werden diese ihre zersetzende Wirkung nicht ausüben können, wenn wenigstens später nicht durch irgendeine Ursache das p_H wieder über diese Grenze hinaus steigt.

Auch die Entwicklung von Buttersäurebakterien ist an die Säurestärke gebunden. Wir fanden (1), daß sie sich bei einem p_H unterhalb 4,2 nicht mehr entwickeln können. Wird das p_H also durch die Milchsäuregärung schnell genug bis unterhalb 4,2 herabgesetzt, so kann auch die Buttersäuregärung nicht mehr auftreten. Da nun der Stoffwechsel der Buttersäurebakterien auf Zucker und Laktaten basiert (2), ist nicht leicht einzusehen, warum diese Buttersäuregärung für die Konservierung der Eiweißstoffe nachteilig sein würde, weil sie die Eiweißstoffe nicht berührt. Wir werden aber später in Abschnitt 6 erörtern, wie gerade die Buttersäurebakterien die Haltbarkeit oder die Stabilität des Futters bestimmen.

Wenn also in einer Silage in der ersten Phase so viel Milchsäure entsteht, daß das p_H unterhalb 4,2 sinkt, so wird eine Buttersäuregärung nicht mehr auftreten. Auch eine Fäulnisgärung unterbleibt, denn die Fäulnisbakterien versagen schon bei höherem p_H.

Eine solche Silage bleibt gut. Tabelle 3 gibt davon einige Beispiele.

Tab. 3. 600 g Gras und 150 ccm Wasser. 20° C.

Ensilierungsdatum	Probenahme n. Anzahl Tage	Bestimmungen in der unteren Grasschicht			
		p_H	% Milchsäure	% Essigsäure	% Buttersäure
7. Mai 1935	3	4,63	0,97	0,16	0,01
	13	4,25	1,54	0,21	0,01
	71	4,11	2,14	0,34	0,06
5. Juni 1935	8	4,00	1,36	0,18	0
	28	3,92	1,71	0,32	0
	71	3,85	2,03	0,28	0

Nur deshalb fanden wir im ersten Versuch doch ein wenig Buttersäure, weil in diesem Falle die Milchsäuregärung nur langsam vonstatten gegangen war. Dadurch war im Anfang eine geringe Buttersäuregärung noch möglich.

Ist nun die Säureentwicklung immer so, daß ein genügend hoher Säuregrad entsteht? Nein, vielfach ist das nicht der Fall. Wir geben in Tabelle 4 einen Auszug aus den vielen in Gläsern ausgeführten Versuchsproben, wobei nur das niedrigste am Ende der ersten Phase gefundenen p_H wiedergegeben wird.

Nur ausnahmsweise sinkt das p_H unter 4,2. In vielen Fällen bleibt der Säuregrad in der ersten Phase sogar so niedrig, daß die Entwicklung der Fäulnisbakterien nicht gehemmt wird. Es ist leicht einzusehen, daß alsdann sofort nach der ersten Phase eine zweite Phase eintritt, wobei die eiweißzersetzenden Fäulnisbakterien ihre Wirkung entfalten und die Konservierung mißlingt.

5. Verbesserung durch Zuckerzusatz.

Der in der Silage durch die Milchsäuregärung erreichte p_H-Wert hängt von der vorhandenen Menge an Kohlenhydraten und der Pufferung des Pflanzenmaterials ab. Den Einfluß der Pufferung kann man nachweisen durch Silierung des Futters in Glaszylindern mit wechselnden Mengen einer Säure unter Zugabe von Formalin, um eine Bakterienwirkung auszuschließen und p_H-Messung nach Einstellung des Gleichgewichtes. Ein Beispiel gibt Abb. 1

Tabelle 4.

Ensilierungsdatum	Versuchsmaterial	Niedrigstes p_H
1934: 23. Mai	Gras	4,44
23. Mai	„	4,19
6. Juli	„	3,78
6. Juli	„	4,67
8. Aug.	„	4,70
18. Aug.	„	4,76
7. Sept.	„	4,72
7. Sept.	„	4,91
10. Sept.	„	4,91
12. Sept.	„	4,56
1935: 26. April	„	4,26
7. Mai	„	4,11
5. Juni	„	3,85
19. Juni	„	4,94
25. Juni	Klee	4,83
23. Aug.	Gras-Klee-Gemisch	5,12
23. Sept.	desgl.	4,71
4. Okt.	Gras	4,46
18. Okt.	„	4,00
19. Okt.	„	4,97

wobei 600 g Gras (A) und 600 g eines Gras-Klee-Gemisches (B) mit 100 cm³ Flüssigkeit ensiliert worden waren. Auf das Futter berechnet, wurde 1, 1,5, 2 und 3% Milchsäure und 0,5% Formalin zugefügt.

Um niedrige p_H-Werte zu erreichen, ist ein Zusatz von Zucker nützlich und manchmal notwendig. In Deutschland wird diese Methode in der Praxis schon lange angewandt.

Aus unseren Versuchsensilierungen ist die nützliche Wirkung des Zuckers leicht ersichtlich (siehe Tabellen 5 und 6).

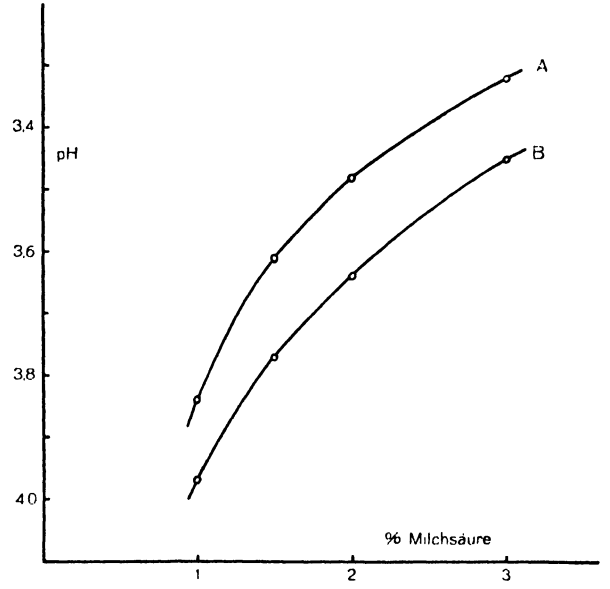


Abb. 1. p_H-Erniedrigung einer Gras- (A) und Gras-Klee-Probe (B) durch Milchsäurezusatz. Bakterienentwicklung wurde verhindert durch Zusatz von Formalin.

Tab. 5. 600 g Gras-Klee-Gemisch und 150 ccm Flüssigkeit. p_H-Messungen ausgeführt nach 133 Tagen.

% Laktose	p_H	% Laktose	p_H	% Laktose	p_H
0	5,92	1	4,46	5	3,90
0,5	4,60	2	3,98		

Tab. 6. Versuchsensilierungen mit und ohne Zucker.

Zuckerzusatz	Niedrigstes p_H	Zuckerzusatz	Niedrigstes p_H
kein	4,65	kein	4,56
1% Saccharose	3,95	0,1% Saccharose	4,16
		0,5% Saccharose	3,98

Zuckerzusatz	Niedrigstes p_H
kein	4,46
2,5% Glukose	3,70

Außer Zucker kann man auch zuckerhaltige Stoffe anwenden, wie z. B. Melasse. Auch Molke wird empfohlen, doch wegen des geringen Zuckergehaltes (nur 4—5%) kann man nur dann günstige Ergebnisse erwarten, wenn man große Mengen zufügt.

Es ist nun gleichgültig, ob man rohe frische, saure oder pasteurisierte Molke anwendet (siehe z. B. Tabelle 7). Es ist deshalb klar, daß nur der Zucker der Molke günstig wirkt und daß die Milchsäurebakterien der Molke für die Ensilierung ohne Bedeutung sind.

Tab. 7. 600 g Gras und 150 ccm Flüssigkeit. Bestimmungen in der unteren Schicht nach 59 Tagen.

Zusatz	p_H	Milchsäure in %
Wasser	4,56	0,98
Pasteurisierte Molke	3,98	2,30
Rohe saure Molke	3,81	2,34

6. Die Buttersäuregärung.

In einer Silage wird eine Buttersäuregärung nur dann auftreten, wenn die Sporen der Buttersäurebakterien gekeimt und die Verhältnisse für eine Entwicklung dieser Bakterien günstig sind.

In der ersten Phase der Ensilierung ist das im allgemeinen nicht der Fall, weil die Sporen einige Zeit zu ihrer Keimung brauchen. Nur wenn die Milchsäuregärung langsam vor sich geht, ist eine schwache Buttersäuregärung in dieser Periode möglich. Bei Grassilagen kommt das nur selten vor. Die Buttersäuregärung fängt also gewöhnlich erst gegen Ende der ersten Gärungsphase an, sogar oft noch später. Diese Gärung wird aber auch dann nicht auftreten, wenn wegen der Wirksamkeit der Milchsäurebakterien das p_H inzwischen unterhalb 4,2 gesunken ist, denn 4,2 ist der Minimum-p_H-Wert für die Entwicklungsmöglichkeit der Buttersäurebakterien. Nur wenn in der ersten Phase der p_H-Wert von ungefähr 4,2 nicht erreicht wird, ist eine Buttersäuregärung zu erwarten!

Was ist das für eine Buttersäuregärung? Offenbar enthielt ein solches Futter zu wenig Zucker, denn sonst wäre das p_H niedriger geworden. Im Augenblick, wo die Buttersäuregärung einsetzt, ist also der Zuckervorrat schon erschöpft, und bleibt für die Buttersäurebakterien nur die Möglichkeit zur Vergärung von Milchsäure oder Laktaten übrig. Es ist somit eine Laktatvergärung. Über diese Vergärung von Laktaten berichteten wir vor

einigen Jahren (2) und wir bewiesen, daß diese Gärung von einer bestimmten Gruppe von Buttersäurebakterien verursacht wird. Wegen ihrer Wichtigkeit für die Käsebereitung haben wir für diese Art den Namen Clostridium tyrobutyricum gewählt. Neben Buttersäure entsteht bei dieser Gärung Kohlensäure und Wasserstoff. Diese Umsetzung erfolgt nach folgender Bruttoformel:

$$2\,C_3H_6O_3 \rightarrow C_4H_8O_2 + 2\,CO_2 + H_2.$$

Die Laktatvergärung hat nun in zweierlei Hinsicht einen wichtigen Einfluß auf die Qualität des Silofutters.

Erstens wird das Futter sehr reich an laktatvergärenden Buttersäurebakterien und deshalb sehr gefährlich für die Käserei.

Zweitens aber beeinträchtigt sie den Säuregrad des Futters, indem die konservierende Milchsäure verschwindet und nur zur Hälfte durch die schwächere Buttersäure ersetzt wird.

Der Säuregrad wird bei einer Laktatvergärung also abnehmen im Gegensatz zu einer Zuckervergärung von Buttersäurebakterien, wobei der Säuregrad zunimmt. Mit einem einfachen Versuch in Fleischbrühe läßt sich dieses bestätigen, wie Tabelle 8 angibt.

Tab. 8. Cl. tyrobutyricum in Fleischbrühe.

Versuch	½% Glukose		2% Ca-Laktat	
	Anfangs-pH	End-pH	Anfangs-pH	End-pH
I	6,0	4,59	5,41	6,65
II	6,0	4,66	5,41	6,54
III	6,0	4,94	5,27	6,72

Dasselbe, was in Laktat-Fleischbrühe geschieht, findet auch in einer Silage statt, welche nicht sauer genug geworden ist, um eine Buttersäuregärung zu verhindern: das p_H steigt stetig an.

In Tabelle 3 haben wir Beispiele gegeben von gut gelungenen Versuchsensilierungen. Das p_H sank in der ersten Phase unterhalb 4,2 und eine Buttersäuregärung trat deshalb nicht auf. In Tabelle 9 erwähnen wir die Ergebnisse einiger Ensilierungen, wobei der Säuregrad zu gering blieb. Wir sehen deutlich,

Tab. 9. 600 g Gras und 150 ccm Wasser bei 20° C.

Ensilierungsdatum	Probenahme n. Anzahl Tage	Bestimmungen in der unteren Grasschicht			
		pH	% Milchsäure	% Essigsäure	% Buttersäure
26. April 1935	3	4,50	1,10	0,17	0,03
	10	4,26	1,50	0,39	0,07
	59	4,56	0,98	0,48	0,28
4. Okt. 1935	5	4,46	0,81	0,20	0
	10	4,51	0,89	0,31	0
	15	4,59	0,82	0,40	0,02
	25	4,79	0,68	0,48	0,13
	61	5,22	0,08	0,64	0,85

wie nach der ersten Phase eine zweite auftritt, während der die Milchsäure von den Buttersäurebakterien in Buttersäure umgewandelt wird, wobei das p_H steigt.

Abb. 2 ist zusammengestellt aus einer Anzahl solcher Versuchsensilierungen. Hieraus geht deutlich hervor, daß das p_H nach der ersten Phase wegen der Laktat-Buttersäuregärung wieder ansteigt. Nur wenn das p_H unterhalb 4,2 gesunken ist, findet dieser Anstieg nicht statt.

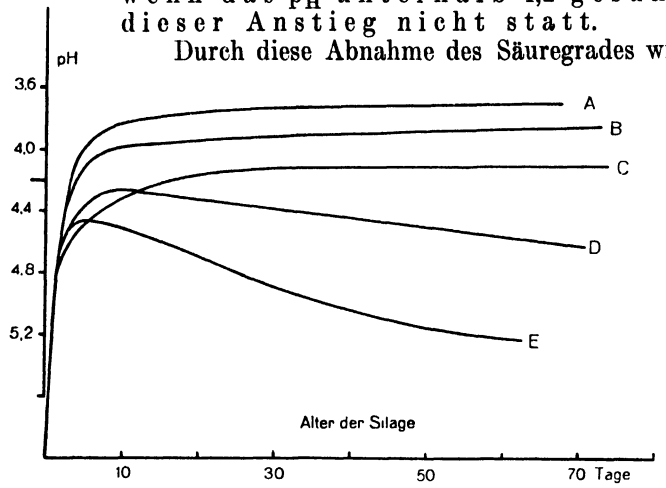


Abb. 2. p_H-Werte verschiedener Versuchssilagen in Abhängigkeit von der Zeit.

Durch diese Abnahme des Säuregrades wird nach einiger Zeit auch ein Wachstum der Fäulnisbakterien möglich, wodurch die Silage verdirbt (Eiweißzersetzung).

Obwohl also die laktatvergärenden Buttersäurebakterien keine Rolle spielen bei der Eiweißzersetzung, leiten sie durch ihre säurevernichtende Wirkung das eigentliche Verderben ein.

Wir kommen also zu dem Schluß, daß es die Buttersäurebakterien sind, welche auf die Haltbarkeit oder das Verderben der Silage einen entscheidenden Einfluß ausüben.

Wenn nämlich in der ersten Phase das p_H nicht unter 4,2 sinkt, folgt in der zweiten Phase eine laktatvergärende Buttersäuregärung und eine sich anschließende Fäulnisgärung.

Wir wollen hier einen Vergleich zwischen Silage und Käse ziehen. Wenn die Kesselmilch Cl. tyrobutyricum enthält, ist eine Buttersäuregärung im Käse zu befürchten. Auch in diesem Fall fängt die Buttersäuregärung erst nach der Beendigung der Milchsäuregärung an. Sie ist also auch eine Laktatvergärung. Wir nennen sie eine nachträgliche Gärung. Auch im Falle der Buttersäuregärung in Silagen können wir also von einer nachträglichen Gärung sprechen.

Diese Folgen der Buttersäuregärung sind so wichtig, daß dadurch das ganze p_H-Gebiet der Silagen in zwei Teile zerfällt, nämlich das Gebiet von p_H-Werten unterhalb 4,2 und das Gebiet von p_H-Werten oberhalb ungefähr 4,2. Das p_H-Gebiet unterhalb ungefähr 4,2 nennen wir das stabile p_H-Gebiet. Denn eine Silage, deren p_H in dieses Gebiet fällt, bleibt gut. Zersetzende Gärungen können darin nicht mehr stattfinden. Das p_H-Gebiet oberhalb 4,2 nennen wir das labile Gebiet, weil das p_H einer Silage in diesem Gebiete sich ändert und die Silage allmählich verdirbt.

Wir sprechen also von einer stabilen Silage, wenn die Konservierung gut gelungen ist, d. h. wenn das p_H während der Bewahrzeit unterhalb 4,2 bleibt. Labile Silagen sind diejenigen, welche im Laufe der

Zeit sich durch die stattfindende Buttersäuregärung und darauffolgende Fäulnis ändern und welche nach einigen Monaten gänzlich verdorben sind.

Die Stabilität des Futters wird also durch die Wachstumsmöglichkeit der laktatvergärenden Buttersäurebakterien bestimmt.

7. Kennzeichen der stabilen und verdorbenen Silagen.

In einer stabilen Silage hat eine Milchsäuregärung stattgefunden. Sie soll also Milchsäurebakterien enthalten und eine große Menge Milchsäure aufweisen. Buttersäure und Buttersäurebakterien müssen fehlen. Weil die Stabilität von einem hohen Zuckergehalt des ensilierten Futters verursacht wurde, wird man in vielen Fällen in diesen Silagen noch Zucker nachweisen können. Das p_H ist niedrig (unterhalb 4,2) und der Geruch gut.

Auch in einer verdorbenen Silage hat im Anfang eine Milchsäuregärung stattgefunden. In dieser werden also die Milchsäurebakterien auch in großer Menge vorkommen müssen. Sie enthält dagegen keine Milchsäure, weil die entstandene Milchsäure nachher von Cl. tyrobutyricum vergoren worden ist. Der Buttersäuregehalt wird also hoch sein, und die Buttersäurebakterien werden in großer Anzahl vorkommen, obwohl sie manchmal schwierig nachzuweisen sind wegen der Fäulnisbakterien, welche bei der Isolierung nicht immer beseitigt werden können. Zucker wird in diesen Silagen niemals vorkommen, denn das Verderben ist eben der Tatsache zuzuschreiben, daß der Säuregrad nach Vergärung des vorhandenen Zuckers nicht hoch genug gestiegen ist.

Der Geruch dieser Silagen wird schlecht sein (Buttersäure, Fäulnis, Ammoniak) und das p_H hoch.

Wir können also die nachstehende theoretische Übersicht aufstellen.

	Stabile Silage	Verdorbene Silage
p_H	niedrig	hoch
Geruch	gut	schlecht
Zucker	an- oder abwesend	abwesend
Milchsäure	hoch	abwesend
Buttersäure	abwesend	hoch
Milchsäurebakterien	anwesend	anwesend
Buttersäurebakterien	abwesend	viele
Fäulnisbakterien	abwesend	viele

Dieses Schema ist aber nur theoretisch, denn in der Praxis ist der Unterschied nicht immer so scharf.

Indem man nämlich versucht, die Silage stabil zu machen durch Zusatz von Stoffen, wie Zucker oder Säuren, wird das Grünfutter meistens schichtweise in den Behälter gebracht und jede Schicht mit einer Lösung bespritzt. Auf diese Weise entstehen abwechselnd Schichten mit viel Säure oder stärkere Säureentwicklung und Schichten, worin die Säuremenge zu niedrig bleibt. In diesen letzten Schichten spielen sich dieselben Prozesse ab wie in einer unstabilen Silage, bis die Säurediffusion aus den erstgenannten Schichten den weiteren Fortgang dieser Prozesse hemmt. Folglich findet man auch in solchen stabilen Silagen doch ein wenig Buttersäure. Schon in unserer Abhandlung

über Mineralsäuresilagen wiesen wir auf die Wichtigkeit dieser Schichtenstruktur hin (1).

Beim Älterwerden der Silagen können die Milchsäurebakterien absterben. Wir beobachten das besonders bei sehr sauren Silagen und bei solchen, davon das p_H wegen des Verderbens oberhalb 5 stieg.

Die Verderbungsprozesse fordern Zeit. Wir bekamen den Eindruck, daß, wenn überhaupt ein Verderben stattfindet, der Prozeß schneller verläuft, je nässer die Silage ist. Sofern man also eine Silage untersucht, deren Verderbungsprozesse noch nicht beendet sind, kann man noch kleine Mengen Milchsäure nachweisen, weil noch nicht alles durch die laktatvergärenden Buttersäurebakterien verbraucht worden ist.

Durch die obengenannten Ursachen ändert sich das allgemeine Bild der Kennzeichen für stabile und verdorbene Silagen wie folgt.

	Stabile Silage	Verdorbene Silage
p_H	niedrig	hoch
Geruch	gut oder ziemlich gut	schlecht
Zucker	an- oder abwesend	abwesend
Milchsäure	viel	wenig (bisweilen abwesend)
Buttersäure	wenig (bisweilen abwes.)	viel
Milchsäurebakterien	an- oder abwesend	an- oder abwesend
Buttersäurebakterien	wenige	viele
Fäulnisbakterien	wenige	viele

8. Die Silagen der Praxis im Lichte unserer Theorie.

Im Winter 1935/36 haben wir 140 Silageproben aus der landwirtschaftlichen Praxis untersucht. Die Silagen waren wie folgt bereitet:

17 von Gras mit Zuckerzusatz (nur 0,25—0,9% Zucker),
83 von Gras mit Molke (1—12% Molke),
6 von Gras ohne Zusatz,
17 von Leguminosen, die meisten mit Molke,
17 von anderen Grünfutterarten, ebenso die meisten mit Molke.

Die Proben waren aus der Mitte der Silagen entnommen und bestanden aus mit einem Spaten ausgestochenen würfelförmigen Blöcken. Wir bestimmten p_H, Milchsäure, Buttersäure, Essigsäure und Trockensubstanz. Eine Geruchsbeurteilung fand ebenso statt und weiter wurde geprüft, ob Milchsäurebakterien, Buttersäurebakterien und Zucker an- oder abwesend waren.

Es ist nicht unsere Absicht, die sämtlichen Resultate unserer Untersuchungen hier ausführlich zu erwähnen. Wir beschränken uns auf eine Übersicht mit Hilfe einiger graphischen Darstellungen. Im allgemeinen werden wir die Silagen ohne Zusatz nicht gesondert betrachten; denn vom bakteriologischen Gesichtspunkte aus betrachtet, umfaßt das Untersuchungsmaterial eine einheitliche Gruppe von Silagen, nämlich die Milchsäuregärungssilagen.

In den nächsten Abschnitten wird gezeigt, daß die Resultate der Untersuchungen von Silagen aus der Praxis völlig übereinstimmen mit unseren aus Versuchsensilierungen abgeleiteten theoretischen Auffassungen.

9. Das p_H der Silagen.

Bei den Gefäßversuchen, wobei Gras ohne Zusatz ensiliert wurde, stellten wir fest, daß der Säuregrad der Silagen am Ende der ersten Phase offenbar in

Abhängigkeit von der Zusammensetzung des Grases sehr verschieden sein kann.

Das niedrigst möglichste p_H für eine Milchsäuregärungssilage ist ungefähr 3,5, weil unterhalb dieses Wertes die Milchsäurebakterien nicht mehr wachsen können (1). Wenn das Futter aber sehr wenig Zucker enthält, wird die Milchsäuregärung nur eine geringe p_H-Erniedrigung verursachen. Deshalb findet man in jungen Silagen nach Ablauf der Milchsäuregärung, vor dem Auftreten der Gärungen der zweiten Phase, p_H-Werte zwischen ungefähr 3,5 und 5,0.

Wenn man sehr viele von diesen jungen Silagen untersucht, kann man erwarten, daß die Anzahl der Silagen in gleichen p_H-Intervallen eine gewöhnliche Frequenzkurve zeigen wird, wie in Abb. 3 A dargestellt ist. Diese Kurve ist nur beispielhaft konstruiert und enthält keine Versuchsdaten.

Wenn die Silagen mit Zucker bereitet sind, wird die Frequenzkurve der Abb. 3A in einem niedrigeren p_H-Gebiete liegen aber sonst ähnlich aussehen.

Am Ende der ersten Phase fängt nun in allen Silagen, welche ein p_H von ungefähr 4,2 nicht erreicht haben, die Nachgärung an, d. h. anfänglich eine Buttersäuregärung, nachher aber eine Fäulnisgärung, wenn durch das Ansteigen des p_H das Wachstum der Fäulnisbakterien möglich geworden ist. In dem schraffierten Gebiet der Abb. 3 A wird das p_H dieser Silagen also allmählich steigen. Deshalb wird in alten Silagen der Zusammenhang zwischen Anzahl der Silagen und p_H nicht gemäß Abb. 3A, sondern gemäß Abb. 3B sein. Die linke Gruppe umfaßt die haltbaren (stabilen), die rechte die verdorbenen Silagen. Wenn man nur alte Silagen untersucht, sollte man Silagen mit einem p_H zwischen ungefähr 4,2 und 4,7 also nicht begegnen. Denn zwischen diesen Werten befindet sich das labile p_H-Gebiet. Zufälligerweise wird man aber doch ab und zu welche finden, z. B. wenn bei sehr trockenen Silagen das Verderben nur sehr langsam stattfindet oder wenn die Probe einer sehr ungleichmäßigen Silage entnommen ist. Häufig kommt es vor, daß eine Silage gute und verdorbene Stellen aufweist, und zwischen diesen findet man bisweilen Teile mit einem p_H des labilen Gebietes.

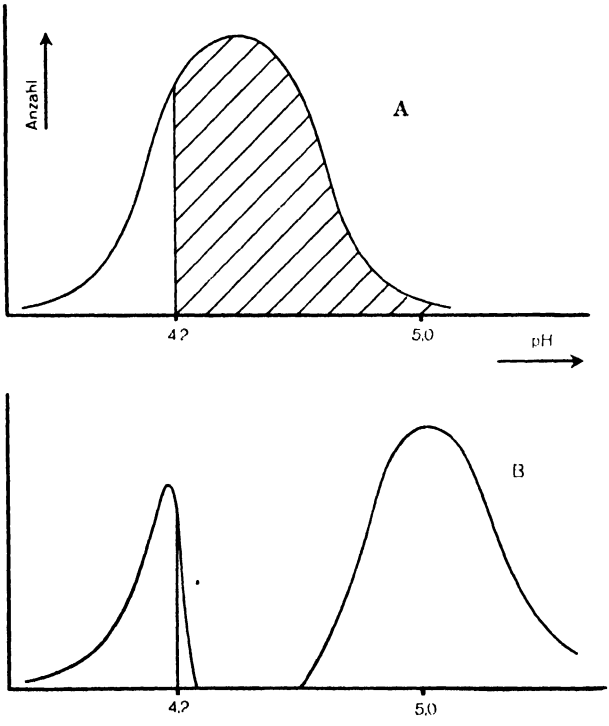


Abb. 3.
A. Theoretische Verteilung junger Silagen im p_H-Gebiete.
B. Theoretische Verteilung alter Silagen im p_H-Gebiete.

Die Untersuchung der Silagen der Praxis die 3—8 Monate alt waren, hat diese theoretische Auseinandersetzung bestätigt, wie aus Abb. 4 hervorgeht. In dieser Abb. bedeutet:

I Grassilagen mit Zuckerzusatz,
II Grassilagen mit Molkezufügung,
IV Leguminosensilagen mit Molkezufügung,
V Silagen anderer Futtermittel mit Molkezusatz.

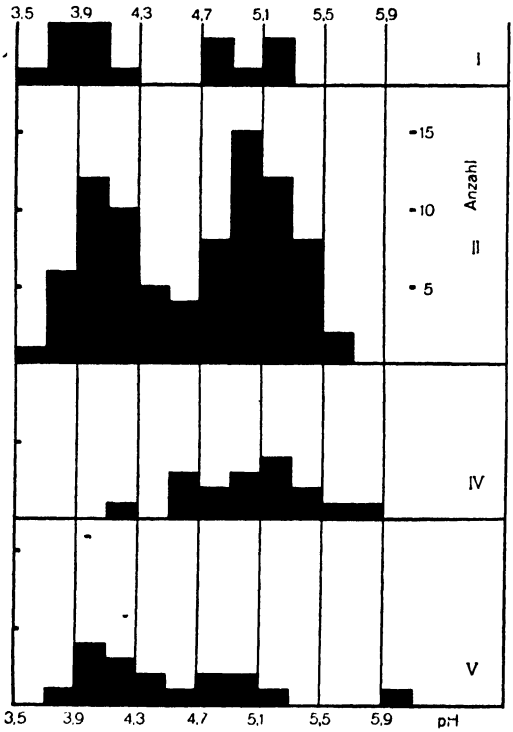


Abb. 4. Verteilung der untersuchten alten Silagen der Praxis im p_H-Gebiete.

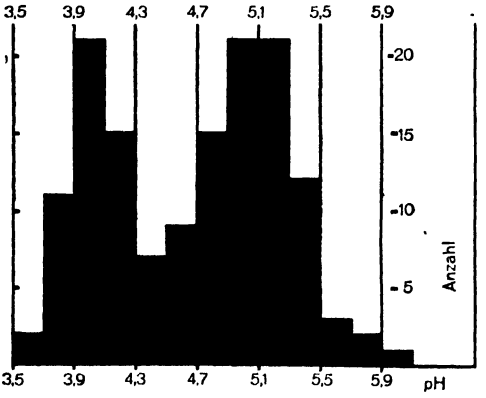


Abb. 5. Verteilung aller untersuchten Silagen der Praxis im p_H-Gebiete.

Abb. 5 gibt das Gesamtergebnis wieder und bestätigt glänzend unsere theoretischen Auffassungen.

10. p_H und Gehalt an Kohlenhydrat und Eiweiß.

Wenn man eine große Anzahl Grasproben derselben Pufferkapazität und verschiedenen Zuckergehaltes ensilieren würde, so würde das bei diesen Proben nach der ersten Phase erreichte p_H dargestellt durch die Kurve A der Abb. 6. Für Proben mit einem höheren Gehalt an puffernden Substanzen gälte die Kurve B und für die mit einem niedrigeren Gehalt die Kurve C. Durch Querstriche ist schematisch angegeben, wie die Anzahl Proben über diese Linie verteilt sein würde (die meisten haben einen mittleren Kohlenhydratgehalt). Bei den Silagen mit einem p_H oberhalb 4,2 wird jetzt die zweite Gärungsphase folgen. Das p_H dieser Silagen wird steigen und wird nach längerer Zeit dargestellt durch die gestrichelten Kurven. Die Proben sind jetzt angegeben mit kleinen Kreisen.

Bei älteren Silagen muß also der Zusammenhang zwischen End-p_H und ursprünglichem Kohlenhydratgehalt angegeben werden, wie dies in Abb. 7 dargestellt ist, womit wir beabsichtigen anzudeuten, daß die Silagen sich in den zwei schraffierten Gebieten angehäuft haben.

Den Zusammenhang zwischen Eiweißgehalt und p_H können wir auf ähnliche Weise betrachten. Die Linie A der Abb. 8 stellt die p_H-Werte vor, welche durch Silagen aus Gras mit gleichem Kohlenhydratgehalt und verschiedenem Eiweißgehalt während der ersten Phase erreicht werden (die Eiweißstoffe werden hier also als die Puffersubstanzen betrachtet). Den Verlauf dieser Linie kennen wir nicht, aber der Einfachheit halber haben wir sie gerade gezeichnet. Die Linien B und C stellen die p_H-Werte bei Grasproben mit weniger, bzw. mehr Zucker vor. Wie in Abb. 6 wird mit Querstrichen die Verteilung der Silagen angegeben.

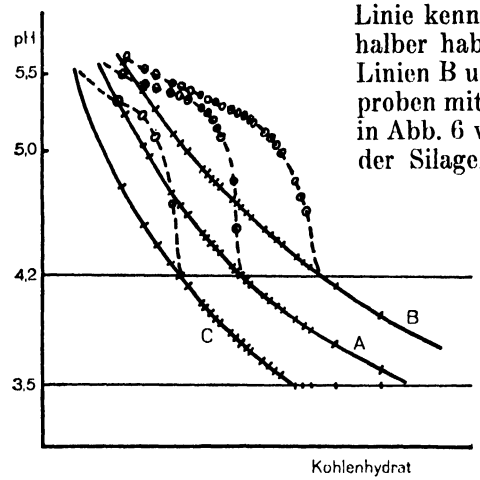


Abb. 6.

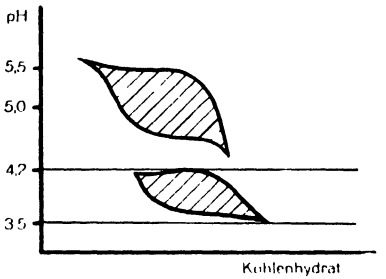


Abb. 7.

Abb. 6. Theoretische Abhängigkeit des p_H vom ursprünglichen Kohlenhydratgehalte der Silagen und Veränderung beim Älterwerden.

Abb. 7. Theoretischer Einfluß des Kohlenhydratgehaltes des frischen Futters auf die Verteilung alter Silagen im p_H-Gebiete.

In dem p_H-Gebiet unterhalb 4,2 bleibt die Silage unverändert, oberhalb 4,2 steigt das p_H allmählich. Schließlich entsteht eine Lage, wie sie mit den gestrichelten Linien angegeben wird (Silagen mit Kreisen markiert). Bei der Untersuchung vieler alten Silagen muß man auch bei Betrachtung des Zusammenhanges zwischen Eiweißgehalt und p_H zwei Gruppen finden, wie Abb. 9 mittels der schraffierten Gebiete angibt.

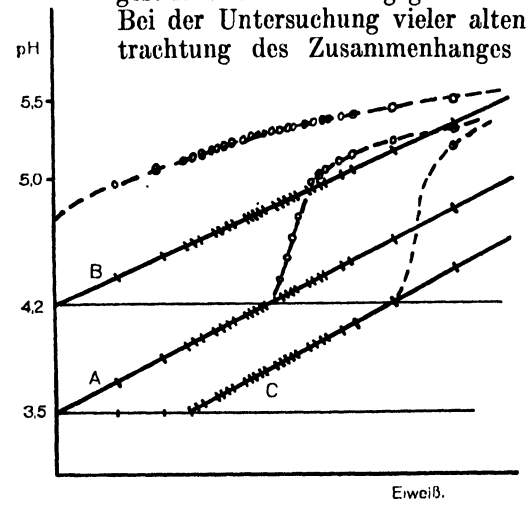


Abb. 8.

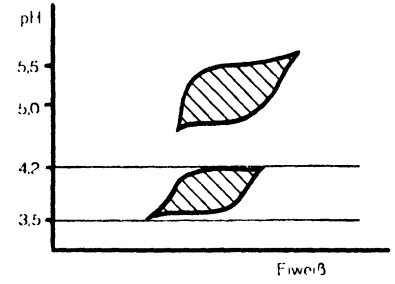


Abb. 9.

Abb. 8. Theoretische Abhängigkeit des p_H vom ursprünglichen Eiweißgehalte der Silagen und Veränderung beim Älterwerden.

Abb. 9. Theoretischer Einfluß des Eiweißgehaltes des frischen Futters auf die Verteilung alter Silagen im p_H-Gebiete.

Über den Zusammenhang zwischen ursprünglichem Kohlenhydratgehalt und p_H haben wir keine Daten zur Verfügung, wohl aber über den Zusammenhang zwischen dem ursprünglichen Eiweißgehalt und dem p_H. Mit Zustimmung des Verfassers übernehmen wir hier eine Abbildung aus einer Abhandlung (3) von E. Brouwer (Abb. 10). Wir sehen, daß diese Abbildung, zusammengesetzt aus Analysendaten, weitgehend mit unserer theoretisch abgeleiteten Abb. 9 übereinstimmt. Mit Vorbehalt einiger Unregelmäßigkeiten lassen sich deutlich 2 Gruppen von Punkten erkennen.

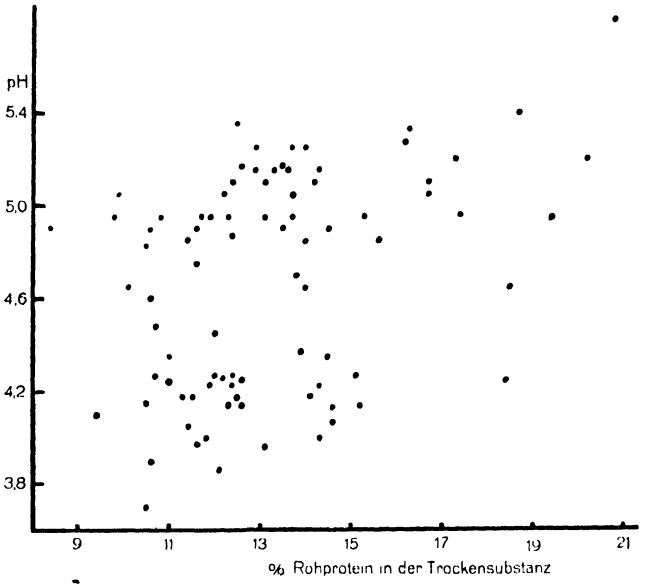


Abb. 10. Abhängigkeit des p_H vom Eiweißgehalte des frischen Futters bei alten Grassilagen der Praxis. Nach E. Brouwer.

Die Abszisse gibt die Menge Eiweißsubstanz an, berechnet durch Multiplizieren des Stickstoffgehaltes mit dem Faktor 6,25. Ammoniakstickstoff ist also einbegriffen, weil dieser durch Zersetzung der ursprünglichen Eiweißstoffe entstanden ist.

Die Unregelmäßigkeiten, wovon oben die Rede war, finden ihre Erklärung in der Tatsache, daß unter dem Versuchsmaterial eine Anzahl Silagen mit Selbsterhitzung vorkam, und daß obendrein in trockenen Silagen die Änderung des Säuregrades in einem langsameren Tempo vollzogen wird, als in feuchten Silagen.

11. P_H und Milchsäuregehalt.

Weil die Erniedrigung des p_H in einer Gärungssilage durch die Milchsäurebildung verursacht wird, müssen wir im großen und ganzen einen derartigen Zusammenhang zwischen p_H und Milchsäuregehalt finden, daß ein niedriges p_H mit einem hohen Gehalt an Milchsäure zusammenfällt. Daß dieses auch wirklich stimmt, geht aus Abb. 11 hervor, in welcher nur die Ergebnisse der Grassilagen eingetragen sind. Der Prozentsatz Milchsäure ist hier berechnet auf das Futter selbst, aber bei einer Umrechnung auf Trockensubstanz oder Saft erhält man eine ähnliche Darstellung.

Weiter erfährt man aus dieser Abbildung, daß in der Tat, wie unsere Theorie es auch fordert, die Silagen mit hohem p_H nur sehr wenig oder gar keine Milchsäure enthalten. Man findet aber doch manchmal sehr viele Milchsäurebakterien in diesen Silagen, was ein Beweis für eine stattgefundene Milchsäuregärung ist. Die entstandene Milchsäure aber ist durch Cl. tyrobutyricum fast restlos vergoren.

Über die Kreuzchen und die mit Ziffern versehenen Punkte dieser Abbildung sprechen wir nachher.

12. P_H und Buttersäuregehalt.

Weil durch die Laktatvergärung von Cl. tyrobutyricum in Silagen oberhalb 4,2 Buttersäure entsteht, muß der Zusammenhang zwischen p_H und Buttersäure theoretisch angegeben werden durch Punkte, welche um die Kurve A der Abb. 12 herum liegen. Denn je mehr Laktat vergoren ist, desto mehr Buttersäure ist entstanden, und desto höher ist das p_H gestiegen.

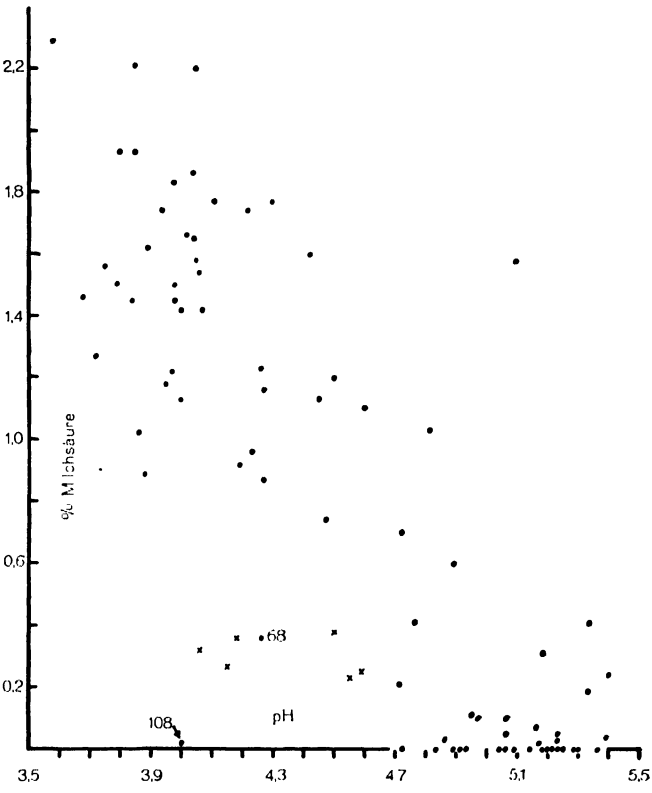


Abb. 11.
Milchsäuregehalt und p_H bei alten Grassilagen der Praxis.

Silagen von p_H unterhalb 4,2 sollen theoretisch keine Buttersäure enthalten, weil die Buttersäurebakterien sich bei diesen Säuregraden nicht vermehren können. Dennoch findet man auch bei p_H unterhalb 4,2 Buttersäure, muß sich aber klar vor Augen stellen, daß die untersuchten Silagen fast immer mit einem Zusatz einer zuckerenthaltenden Substanz bereitet wurden. Die Zuckerlösung wird bekanntlich schichtweise gespritzt und deshalb entstehen, wie wir im Abschnitt 7 eingehend erörtert haben, Schichten mit und Schichten ohne hinreichende Mengen Zucker, um das p_H unterhalb 4,2 zu bringen. In den letztgenannten Schichten findet noch eine gewisse Buttersäuregärung statt und deshalb entwickelt sich auch, obwohl das p_H im Durchschnitt unterhalb 4,2 ist, noch Buttersäure. Die Wirkung der zuckerarmen Schichten ist größer, je nachdem das durchschnittliche

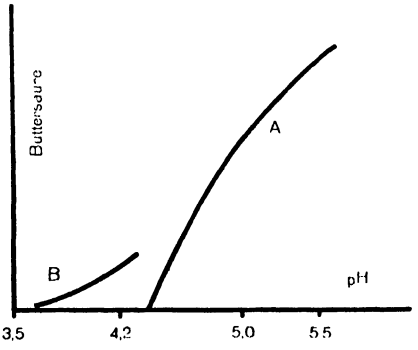


Abb. 12.
Theoretischer Buttersäuregehalt alter Silagen von verschiedenem p_H.

p_H mehr in der Nähe von 4,2 liegt, weil dann die Säurediffusion, wodurch diese Gärung schließlich aufhört, langsamer verläuft wegen des geringen p_H-Unterschiedes der beiden Schichtarten. Zufolge dieser Umstände muß der Gehalt an Buttersäure bei einem p_H unterhalb 4,2 angegeben werden durch eine Linie wie die Kurve B in Abb. 12.

Die Analysenresultate der Silageproben aus der Praxis, welche in Abb. 13 eingetragen sind, bestätigen unsere obigen Betrachtungen vollkommen.

Buttersäuregärung bei einem mittleren p_H unterhalb 4,2 wird stark gefördert durch eine nachlässige Mischung der Zuckerlösung mit dem zu ensilierenden Futter.

Es gibt aber doch eine Anzahl Silagen ohne Buttersäure. Diese sind Silagen von zuckerreichem Gras. Auch ohne Zusätze wären die p_H-Werte dieser

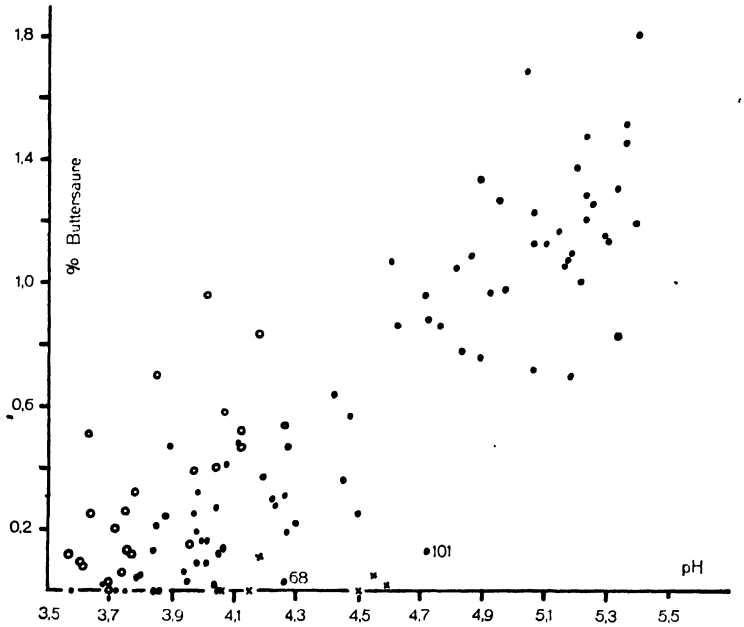


Abb. 13. Buttersäuregehalt alter Grassilagen der Praxis.

Silagen unterhalb 4,2 gesunken. Es gibt also bei diesen Silagen keine Schichten, die zu wenig Säure enthielten und eine Buttersäuregärung konnte deshalb nicht auftreten.

In der Abb. 13 sind auch Silagen, bereitet mit Mineralsäure, aufgenommen. Diese stammen aus einer früheren Arbeit (1) und sind mit Kreisen markiert. Wir sehen, daß diese durchschnittlich mehr Buttersäure enthalten als die anderen Silagen mit gleichem p_H. Auch das läßt sich mit Hilfe der Schichtenstruktur erklären. Wenn nämlich eine Anzahl Silagen von Gras mit verschiedenem Proteingehalt bereitet wird mit einer gleichen Menge Mineralsäure, so werden schließlich diejenigen Silagen mit dem höchsten Gehalt an puffernden Substanzen die höchsten mittleren p_H-Werte aufweisen. Bei Mineralsäuresilagen muß das durchschnittliche p_H unterhalb 4 sein, und diese höchsten mittleren p_H-Werte liegen also ungefähr zwischen 3,5 und 4. In den nicht durch die Säure benetzten Zwischenschichten ist somit bei diesen Silagen die

Möglichkeit für eine Buttersäuregärung am größten, weil sie durch Selbstgärung wegen des Protein-Kohlenhydrat-Verhältnisses in keinem Falle unterhalb p_H 4,2 geraten könnten.

Bei den in Abb. 13 gezeichneten Silagen bereitet unter Verwendung eines zuckerenthaltenden Stuffes, welche ein p_H unterhalb 4 aufweisen, ist die Homogenität tatsächlich viel größer. Denn bei diesen Silagen war nur wenig Zucker zugesetzt. Sie verdanken ihren Platz in dem stabilen Gebiet nicht in erster Linie dem Zusatz, sondern der Tatsache, daß das Futter selbst zuckerreich war.

Es ist von diesem Gesichtspunkte aus leicht zu verstehen, daß unterhalb p_H 4,2 die Homogenität der hier in Betracht kommenden Zuckersilagen größer ist als die der Mineralsäuresilagen, und daß folglich die Mineralsäuresilagen in diesem Gebiete eine größere Menge Buttersäure enthalten als die Zuckersilagen des gleichen p_H.

Gewissermaßen stimmt die Auffassung, daß Silagen mit dem höchsten p_H die meiste Buttersäure enthalten müssen, mit unserer Theorie überein; tatsächlich nimmt der Gehalt an Buttersäure zu, je nachdem die Buttersäurebakterien (Cl. tyrobutyricum) mehr Milchsäure vergoren haben und dadurch das p_H des Futters stärker erhöht haben.

Andererseits befinden sich unter den Silagen mit hohem p_H verschiedene Silagen von Futter mit sehr niedrigem Zuckergehalt und bei diesen kann nur wenig Milchsäure und deshalb auch wenig Buttersäure auf die obengenannte Weise entstehen. Es gibt aber bei hohem p_H noch eine andere Ursache für die Entwicklung von Buttersäure, denn bei diesen p_H-Werten wachsen die Fäulnisbakterien auch.

Die Fäulnisbakterien (Cl. putrificus) entwickeln nämlich bei der Eiweißzersetzung auch ziemlich viel Buttersäure. Nach Isolierung und Reinkultivierung impften wir einige Putrificus-Stämme in verdünntes Hefeautolysat (1 Teil konzentriertes Autolysat und 3 Teile Wasser). Der Boden enthielt keinen Zucker. An Buttersäure wurde nach Beendigung der Gärung gefunden: 0,18; 0,19; 0,20 und 0,21%.

13. Milchsäure- und Buttersäuregehalt.

Der nach der Theorie zu erwartende Zusammenhang zwischen Milchsäure und Buttersäure läßt sich in Abb. 14 deutlich erkennen. Silagen mit viel Buttersäure enthalten wenig Milchsäure und die mit viel Milchsäure enthalten wenig Buttersäure. Nur ist zu bemerken, daß diese graphische Darstellung für unsere Theorie der Milchsäurevergärung durch Cl. tyrobutyricum kein Beweis ist, denn auch nach den älteren Auffassungen der Silagegärungsprozesse, wonach entweder Buttersäuregärung oder Milchsäuregärung stattfindet oder beide Prozesse zu gleicher Zeit verlaufen, und in beiden Fällen nur Zucker als Gärstoff verbraucht wird, würde man eine gleichartige Figur wie Abb. 14 erwarten können. Sie gibt uns aber eine Anweisung, welche mit unserer Theorie im Einklang ist und bildet deshalb sozusagen ein Glied, das sich sehr schön in die Kette unserer wirklichen Beweise hineinreihen läßt.

14. Silagen mit Selbsterhitzung.

Von Silagen mit Selbsterhitzung wissen wir zur Zeit noch wenig. Bei den von uns untersuchten Silagen der Praxis waren, nach dem Geruch zu urteilen,

nur wenige Silagen mit Selbsterhitzung. Charakteristische Merkmale dieser Silagen waren folgende:

der Gehalt an Trockensubstanz war hoch,
es war noch viel Zucker nachzuweisen,
sie enthielten keine Milchsäurebakterien,
der Gehalt an ätherlöslicher, nicht flüchtiger Säure war sehr gering (0,23—0,38%, berechnet als Milchsäure),
Buttersäure war abwesend,
es wurden p_H-Werte gefunden von 4,06—4,59.

Weder Buttersäuregärung noch Milchsäuregärung hat also in diesen Silagen stattgefunden. Indessen ist das p_H ziemlich niedrig und man trifft wohl flüchtige Säuren (berechnet als Essigsäure 0,21 bis 0,51%) an.

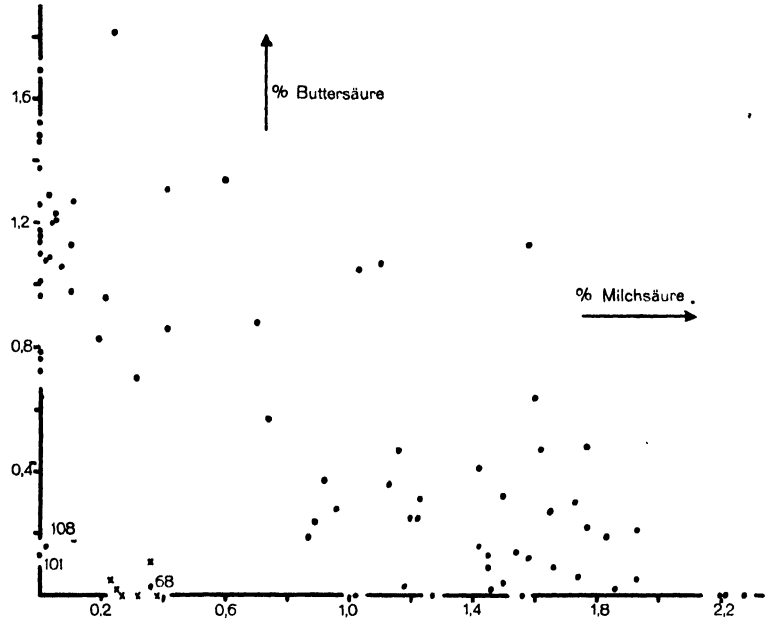


Abb. 14. Buttersäure- und Milchsäuregehalt alter Silagen der Praxis.

Im Schrifttum wird das Auftreten einer sauren Reaktion zusammen mit einer Produktion flüchtiger Säuren auch bei der Selbsterhitzung des Heues erwähnt.

In frischem Extrakte selbsterhitzten Heues fanden wir p_H-Werte von 4,02 und 4,01, dagegen in einer Heuprobe ohne Selbsterhitzung ein p_H von 6,9.

In den graphischen Darstellungen nehmen diese Silagen mit Selbsterhitzung eine gesonderte Stellung ein. Sie sind in den Abb. 11, 12 und 14 mit Kreuzchen gezeichnet. Diese Sonderstellung beweist, daß sie nicht zu dem System der Gärungssilagen gerechnet werden können. Die Silage Nr. 68 war ein Sonderfall. Dem Milchsäure-, Buttersäure- und Trockensubstanzgehalt nach war sie eine Silage mit Selbsterhitzung. Zucker war aber abwesend und sie enthielt eine Menge Milchsäurebakterien, was mit der Selbsterhitzung nicht stimmt.

Die Erscheinung der Selbsterhitzung verwirrt oft das Bild einer Silage, weil sie manchmal nur stellenweise aufgetreten ist. Wenn das der Fall ist, ist es auch schwierig, die Silagen in das skizzierte System einzureihen.

15. Essigsäuresilagen.

In unseren Gefäßversuchen stießen wir einige Male auf ein Verderben der Silage, wobei von einer normalen Buttersäuregärung nicht die Rede sein konnte. In Tabelle 10 geben wir eine Übersicht einer Versuchsreihe, wobei 500 g Gras mit einer zunehmenden Menge Wasser ensiliert wurde. Sehr deutlich läßt sich erkennen, wie bei den ersten zwei Proben das normale Verderben durch Buttersäuregärung stattgefunden hat. Bei den anderen Proben dagegen wurde fast keine Buttersäure gefunden, obwohl das p_H dieser Silagen hoch war.

Tabelle 10.

ccm Wasser	p_H	% Essigsäure	% Buttersäure
100	5,78	0,64	0,72
150	6,24	0,49	0,82
200	5,70	0,81	0,09
250	5,47	1,03	0,05
300	5,09	0,96	0
350	4,89	1,08	0

Merkwürdig ist nun die Entwicklung einer außerordentlich großen Menge Essigsäure, welche bei normalen Silagen selten 0,5% übertrifft.

In einem anderen Versuch mit gleichem Resultat wurde gefunden, daß ein niedriger Milchsäuregehalt mit einem hohen Essigsäuregehalt übereinstimmte und umgekehrt. Das deutet also auf ein „Essigsäureverderben".

Auch unter Silagen der Praxis begegneten wir dieser Erscheinung, wenn auch nur ausnahmsweise. Es waren die Silagen Nr. 101 und 108, welche in den Darstellungen 11, 12 und 14 mit ihren Nummern angedeutet sind.

Wegen der Seltenheit dieses Fehlers sind wir zu einer näheren Erklärung nicht imstande.

16. Andere Futterarten als Gras.

Auch die Silagen der anderen Futterstoffe konnten wir in die beschriebenen Typen einreihen. Nur die Geruchsbeurteilung ist oft schwieriger, weil viele dieser Stoffe (Rüben, Leguminosen, Getreidepflanzen) einen typischen eigenen Geruch besitzen.

17. Charakteristische Merkmale der vier Silagetypen.

Auf Grund der vorhergehenden theoretischen und praktischen Erörterungen kommen wir zu der Aufstellung von 4 deutlich voneinander verschiedenen Silagetypen.

Typus A. Gutkonservierte Silagen. Das p_H ist durch eine kräftige Milchsäuregärung unterhalb 4,2 gesunken. Verderbende Gärungen sind deshalb ausgeschlossen. Die Silage ist stabil.

Typus B. Verdorbene Silagen. Mangel an Kohlenhydraten war die Ursache einer zu geringen Säuerung. Deshalb waren diese Silagen

nach Beendigung der Milchsäuregärung labil. Sie verdarben durch nachfolgende Buttersäure- und Fäulnisgärung unter Anstieg des p_H.

Typus C. Silagen mit Selbsterhitzung. Gärungen konnten wegen der hohen Temperatur nicht stattfinden.

Typus D. Essigsäuresilagen. Mehr oder weniger verdorben und charakterisiert durch viel Essigsäure ($\pm$ 1%).

18. Die Bakterien der Milchsäuregärung in Silagen.

Mit Hilfe der in den ersten Abschnitten beschriebenen Gefäßversuche studierten wir die Entwicklung der Milchsäurebakterienflora in Silagen. Leicht war das allerdings nicht, denn diese Flora ist sehr heterogen. Man findet „Kokken" und „Stäbchen" und unter ihnen solche mit geringer und solche mit kräftiger Säurebildung nebst manchen Übergangstypen. Sämtliche Arten findet man in jungen und alten, in guten und in schlechten Silagen, so daß man sich im Bakteriengewirr nicht leicht zurecht findet.

Es gelang uns aber doch einige allgemeine Gesetzmäßigkeiten zu entdecken. Wenn man sich auf die kräftig säuernden Bakterien beschränkt, so trifft man bei einer Silage, bei der im Anfang genügend Zucker anwesend war, um eine stabile Silage unterhalb 4,2 zu liefern, in der ersten Periode der Säuerung, das ist also nachdem die ursprüngliche Flora der aeroben Bakterien durch eine Flora von Milchsäurebakterien ersetzt war, nur „Kokken" an. Nach Fortschreiten der Säuerung erscheinen die „Stäbchen", deren Säurerungsvermögen größer ist, wie die der erst auftretenden Kokken. Gegen Ende der Säuerung sind die kräftig säuernden Kokken in den meisten Fällen verschwunden und trifft man unter den kräftig säuernden Bakterien nur noch Stäbchen an.

Diese Reihenfolge der zwei Typen von Milchsäurebakterien hat einen bakteriologischen Grund. Denn die Kokken vertragen nicht solche hohen Säuregrade wie die Stäbchen. Während die Stäbchen ihre Wirksamkeit entfalten bis zu einem p_H von ungefähr 3,5 stellen die Kokken ihr Wachstum bei höherem p_H ein.

Die Kokken entwickeln sich also in der letzten Phase der Milchsäuregärung nicht mehr und sterben bald, weil der Boden für sie zu sauer geworden ist.

Im allgemeinen aber zeigen die Kokken bei den hier in Betracht kommenden Temperaturen eine größere Entwicklungsgeschwindigkeit als die Stäbchen. Eine große Ähnlichkeit mit den Molkereimilchsäurebakterien fällt hierbei auf. Denn auch in roher Milch gehen die Kokken (S c. l a c t i s) viel eher an als die Stäbchen (S b. c a s e i) während der von ihnen erreichte Endsäuregrad viel niedriger ist.

Wegen der größeren Wachstumsgeschwindigkeit und der geringeren Säurebeständigkeit der Kokken findet also im Gärfutter, wie auch in Milch, im Anfang eine Säuerung durch Kokken und nachher eine weitergehende Säuerung durch Stäbchen statt. Nur sind in Silage andere Arten an der Säuerung beteiligt, wie in Milch. Wir nennen die Milchsäurebakterienarten der Grassilagen der Einfachheit halber „Graskokken" und „Grasstäbchen". Die kräftigsäuernden Grasstäbchen, welche die Säuerung in einer guten Silage vollenden, gehören, wie wir feststellten, zu dem Typus „S t r e p t o b a c t e r i u m p l a n t a r u m".

In alten gut gelungenen Silagen sind auch diese Grasstäbchen oft abgestorben. Sie enthalten also manchmal nur wenige Milchsäurebakterien.

Wenn das zu ensilierende Futter zu wenig Zucker enthält, wenn also die junge Silage unstabil ist und schließlich verdirbt, so geschieht die anfängliche Säuerung ebenfalls durch die kräftig säuernden Graskokken. Nachher entwickeln sich aber nur wenige kräftigsäuernde Grasstäbchen, weil Mangel an Zucker entsteht. Die Hauptflora besteht alsdann aus schwächersäuernden Grasstäbchen.

Eine Begleitflora schwachsäuernder Kokken findet man hauptsächlich in Silagen mit einem nicht zu hohen Säuregrad, also z. B. in jungen Silagen, wo das p_H noch nicht tief genug gesunken ist, in alten Silagen mit einem p_H von ungefähr 4 oder in verdorbenen Silagen.

Sehr schwach säuernden Stäbchen begegnet man dagegen fast nur im Anfang der Milchsäuregärung zwischen der aeroben Flora.

In Bezug auf die Verwendung von Molke oder Magermilch bei der Ensilierung untersuchten wir, ob die Milchsäurebakterien dieser Stoffe für die Milchsäuregärung in der Silage von Bedeutung sein könnten.

Die Molkereikokken entwickeln sich nur unbedeutend in pflanzlichen Extrakten. Sie kommen also nicht in Frage. Auch die Molkereistäbchen sind praktisch wertlos. Wenn das Futter mit Reinkulturen von S b. c a s e i geimpft wird, findet man diese Bakterien während der Stäbchengärung in der Silage wohl vor, aber immer neben S b. p l a n t a r u m, und weil S b. c a s e i nur sehr langsam zugrunde geht, ist ihre Anwesenheit also nicht einmal ein Beweis für ihre Teilnahme an der Säuerung. Ohne Impfung mit Sb. c a s e i findet man dieses Bakterium in Silagen überhaupt nicht.

Zusammenfassung.

Ein ungehemmtes Bakterienwachstum ist nur möglich in Silagen, welche keine starke Selbsterhitzung aufweisen und ohne Zusatz von starken Säuren bereitet wurden.

Im Anfang entwickeln sich in diesen Silagen aerobe (hauptsächlich verflüssigende) Bakterien. Sobald aber der Sauerstoff verschwunden ist, gewinnen die Milchsäurebakterien die Oberhand. Die von ihnen hervorgerufene Milchsäuregärung verläuft in 2 Stufen. Die 1. Stufe ist eine Säuerung von schnellsäuernden Diplokokken, die 2. eine von säureresistenten Stäbchen (S b. p l a n t a r u m).

Wir nennen die Vorgänge bis zum Ende der Milchsäuregärung die 1. Phase.

Die entstandene Gärungsmilchsäure übt die konservierende Wirkung aus, denn die schädigenden, eiweißzersetzenden Fäulnisbakterien wachsen im sauren Futter nicht. Man würde also erwarten, daß das Futter nicht verdürbe, wenn der erreichte Säuregrad hoch genug wäre, um nur die Entwicklung der Fäulnisbakterien zu verhindern. Das ist aber nicht so. Es sind die Buttersäurebakterien, die die Haltbarkeit einer Silage bestimmen, weil sie weniger säureempfindlich sind als die Fäulnisbakterien. Denn ihr Wachstum stellt sich erst bei etwa p_H 4,2 ein, und deshalb wird jedenfalls eine 2. Phase von bakterieller Tätigkeit in der Silage folgen, wenn nach Ablauf der 1. Phase das p_H nicht unterhalb 4,2 gesunken war.

Die 2. Phase fängt also mit einer Buttersäuregärung an und diese ist eine Laktatvergärung, hervorgerufen von C l. t y r o b u t y r i c u m, wobei

Milchsäure vernichtet und diese von den schwächeren Säuren Buttersäure und Kohlensäure ersetzt wird. Das p_H steigt somit, und wenn der Säuregrad niedrig genug geworden ist, um die Entwicklung der Fäulnisbakterien zu ermöglichen, so wird die Silage von einer Fäulnisgärung verdorben.

Wenn also in der 1. Phase das p_H unterhalb 4,2 sinkt, so bleibt die Silage gut (eine stabile Silage). Darum nennen wir das p_H-Gebiet unterhalb 4,2 das stabile p_H-Gebiet. Sinkt aber das p_H nicht so weit, so steigt das p_H nachher wieder an und die Silage verdirbt. Die Silagen sind also im p_H-Gebiete oberhalb 4,2 labil.

Die alten Silagen, welche untersucht werden, wenn alle Gärungen schon stattgefunden haben, müssen folglich in 2 p_H-Gebieten angehäuft sein, zwischen welchen sich ein fast leeres p_H-Gebiet befindet. Die Gruppe der stabilen Silagen (p_H 3,5—4,2) ist gekennzeichnet durch viel Milchsäure und keine Buttersäure. Die Gruppe der verdorbenen Silagen (p_H 4,8—6) ist nahezu milchsäurefrei, weil die anfänglich gebildete Milchsäure von den laktatvergärenden Buttersäurebakterien zersetzt worden ist. Diese Silagen enthalten deshalb viel Buttersäure.

Um ein niedriges p_H zu erreichen, kann man dem Futter Zucker zusetzen. Weil dieser Zusatz in der Praxis immer schichtweise geschieht, bilden sich im Futter Schichten mit und ohne Zucker. In den letztgenannten Schichten wird eine Buttersäuregärung auftreten. Darum kann man in manchen Silagen mit mittlerem p_H unterhalb 4,2 ein wenig Buttersäure nachweisen.

Untersuchungen an einer großen Anzahl Silagen der landwirtschaftlichen Praxis erwiesen die Richtigkeit dieser auf Grund von Laboratoriumsversuchen erworbenen Auffassungen.

Silagen mit deutlicher Selbsterhitzung enthalten keine Buttersäure und Milchsäure. Die analytischen Daten dieser Silagen lassen sich nicht in das System der Milchsäuregärungssilagen einreihen. Das ist auch der Fall mit Silagen, welche abnorme Mengen Essigsäure neben wenig Milchsäure enthalten. Diese Essigsäuresilagen kommen aber selten vor.

Unsere Untersuchungsergebnisse führen zu einer Einteilung der Silagen in 4 Gruppen, zwischen welchen es aber viele Übergänge gibt.

Schrifttum.

1. van Beynum, J. und Pette, J. W., Buttersäuregärung und Milchsäuregärung im Silofutter. (Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 94. 1936. S. 413.) — 2. Dies., Zuckervergärende und laktatvergärende Buttersäurebakterien. (Zentralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 93. 1935. S. 198.) — 3. Brouwer, E., Onderzoek van een aantal silagemonsters uit de praktijk, bereid onder toevoeging van zuivelafvalproducten of van suiker. (Verslagen v. landbouwkundige onderzoekingen. Bd. 43. 1937. S. 55.)

Nachdruck verboten.

Beeinflussung des Milchsäurebakterien-Wachstums durch Kefirpulver und „Kefermon".

[Aus dem Laboratorium der Bayerischen Milchversorgung G. m. b. H. mit dem Sitz in Nürnberg.]

Von **Max Schulz.**

Mit 3 Abbildungen im Text.

In der bakteriologischen Literatur wurden bereits die Eigenschaften von Kefir-Milchprodukten und Kefirpilzen häufiger behandelt (1).

Kefirkörner werden als Pilzkultur bei der Herstellung von Milchgetränken gebraucht. Bei allen Arbeiten der Praxis stand bisher das Milchgetränk „Kefir" im Vordergrund. Seit einigen Jahren schenkt man aber auch der technischen Verarbeitung der Kefirpilze selbst Beachtung.

Verf. ist es gelungen, durch Züchtung in Molke (2) die Gewinnung von Kefirpilzen so zu verbilligen, daß man diese Pilze als neuen Rohstoff verwerten kann. In der Bayerischen Milchversorgung werden heute ca. 5000 kg Kefirpilze monatlich gewonnen und zu verschiedenen Erzeugnissen verarbeitet (siehe Abb. 1—3). Dabei werden einerseits die Eigenschaften des Pflanzengummis (Kefirgummi) ausgenutzt. Es ist derselbe Stoff, der das Zusammenkleben der Hefen und Bakterien zu knollenartigen Pilzgebilden bewirkt. Dieser Kefirgummi ermöglicht die Herstellung von Schaumeiweiß aus Kasein, von Spezialleimen, Spezialkunstseide u. ähnl. Auf der anderen Seite haben aber die Kefirpilze große Bedeutung als Quelle für Fermente, Vitamine und andere Wuchsstoffe. Das aus den feuchten Kefirpilzen hergestellte Kefirpulver stellt gewissermaßen die erste in größerem Maßstab hergestellte Milchnährhefe dar. Die Trocknung erfolgt auf Walzen bei so hohen Temperaturen, daß die Hefen und Bakterien abgetötet werden.

Abb. 1. Gärende Molke.

Andererseits wurde die Trocknungsdauer so kurz gewählt (2—4 Sek.), daß die Vitamine der Hefe erhalten bleiben.

Da das in üblicher Weise gefällte und aufgeschlossene Kasein der Milch nur wenig Vitamine enthält, wird das Kefirpulver verwendet, um vitaminisierte Kaseinpräparate herzustellen. Für die bakteriologische Wirkung ist sowohl das reine Kefirpulver, wie dieses Kasein-Kefirpulver-Gemisch von Bedeutung. Letzteres Produkt wurde deshalb in die Versuche mit einbezogen.

Das Gemisch aus Kefir und Kasein wird als „Kefermon" bezeichnet. Die Zusammensetzung beider Produkte ist aus nachstehenden Analysen zu entnehmen.

	Kefirpulver	Kefermon
Trockenmasse	91,0%	91,0%
Eiweiß	40,6%	66,2%
Asche	8,9%	7,5%
Kalk (CAO)	0,9%	1,7%
Fett	3,0%	1,5%
Hefengummi und Glykogen	36,3%	7,3%

Bezüglich des Vitamingehaltes, insbesondere an B-Vitaminen, war schon vorauszusehen, daß die Pilze diese Stoffe enthalten, da ja nach Wagner und Jauregg Milchsäurebakterien und Hefen reich an Flavin sind (3).

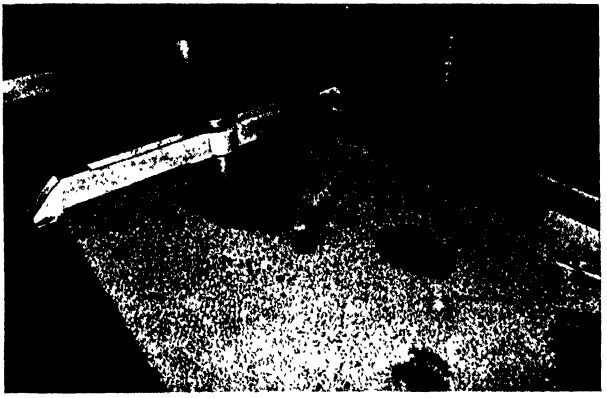


Abb. 2. 3000-l-Behälter mit Molke und Kefirpilzen.

Durch eigene Versuche gelang es, in einer chemisch genau bekannten Nährlösung bei Gegenwart von Alanin sogar Laktoflavin zu bilden (4). Daß das Kefirpulver Laktoflavin in großen Mengen enthält, läßt sich sehr leicht nachweisen, indem man das Pulver mit 50proz. Alkohol- oder 50proz. Azetonwasser extrahiert. Die so gewonnenen Lösungen fluoreszieren sehr stark gelb. Außer Kefirpulver und Kefermon wurde deshalb auch noch der alkoholische Auszug zu den Versuchen über Beeinflussung des Wachstums von Milchsäurebakterien benutzt.

Es ist klar, daß für diese Beeinflussung sehr viele, auch unbekannte Faktoren in Frage kommen, da unsere Kenntnisse von den Wuchsstoffen, die wahrscheinlich in der Hefe vorhanden sind, immer noch sehr gering sind. Als Vorversuch wurde zunächst einmal festgestellt, wie der alkoholische Kefirextrakt, der Vitamine und Eiweißstoffe enthält, das Säurewecker-wachstum (Streptococcus cremoris und lactis) beeinflußt, wenn kein Mangel an Nährstoffen besteht. Es wurde deshalb die Beeinflussung des Säuerungsvermögens in Magermilch bei 20° mit Zusätzen von 1—3% Kefirextrakt geprüft. Zur Kontrolle der Wirkung des Alkohols wurde ein Blindversuch mit 3% 50proz. Alkohol angesetzt. Das Ergebnis ist aus Tab. 1 zu entnehmen. Es zeigte sich, daß der normale Butterei-Säurewecker gegen Alkohol empfindlich ist, so daß eine Wirkung der Kefirbestandteile in diesem Fall nicht erkennbar war.

Tab. 1. Beeinflussung des Säurewecker-Wachstums in Magermilch durch alkoholischen Kefir-Extrakt.

Bebrütungszeit in Std.	Reine Magermilch	dasselbe und 1% Kefir-Extrakt	dasselbe und 3% Kefir-Extrakt	dasselbe und 3% 50proz. Alkohol
14	38,3 SH	36,7 SH	31,0 SH	24,9 SH
23	42,6 SH	41,5 SH	40,6 SH	40,2 SH
48	45,3 SH	44,3 SH	44,0 SH	42,0 SH

Die in der Tabelle aufgeführten Zahlen stellen die Säuregrade nach Soxleth-Henkel dar. Die SH-Grade entsprechen dem Verbrauch von n/4 Natronlauge auf 100 ccm Milch.

Es wurde dann noch ein zweiter Versuch mit Säurewecker angesetzt, indem Nährlösungen nur aus Milchzucker und den Eiweißpräparaten zur Anwendung kamen. Infolge der Säureempfindlichkeit des Säureweckers und infolge der schwachen Pufferung dieser Lösungen ließ sich auch bei dieser Nährlösung keine hervorstechende Wirkung von Kefirpulver und Kefermon feststellen. Mit Rücksicht darauf, daß die vorgenannten Präparate in erster Linie als Nährmittel dienen sollen, wurde dann die Beeinflussung des Wachstums von wärmeliebenden Milchsäurebakterien[1]) geprüft, denn nur solche Milchsäurebakterien können sich im Darm anreichern. Es wurden zwei Versuche durchgeführt, und zwar:

Abb. 3. Kefirpilze (ca. 2000 kg) nach Ablassen der Molke.

1. Versuche, bei denen Nährkasein, Kefermon und Kefirpulver lediglich als Stickstoffquelle dienten. Als Nährlösung wurde enteiweißte Molke genommen, die gut gepuffert ist und die bereits die wichtigsten Nährsalze und Wuchsstoffe enthält.

2. Es wurde eine Versuchsreihe durchgeführt, in der die Eiweißpräparate auch den Bedarf an Nährsalzen und Vitaminen (Wuchsstoffen) decken mußten. In diesem Fall wurde eine Nährlösung aus 5% Milchzucker mit verschiedenen Zusätzen von Eiweißstoffen hergestellt. Irgendwelche anderen Nährsalze wurden nicht zugesetzt.

Wie die Tab. 2—5 zeigen, ist das Wachstum der Thermobakterien in Molke wie bekannt wesentlich gehemmt, sofern man den gebildeten Säuregrad als Maßstab anlegt. Es wurde wieder durch diesen Versuch bestätigt, daß das Thermobact. helveticum am wenigsten anspruchsvoll ist und in Molke das beste Säuerungsvermögen aufweist. Bereits bei Zusätzen von alkoholischem Kefirextrakt wird das Bakterienwachstum bei 40° gebessert.

[1]) Die Reinkulturen wurden vom Bakteriologischen Institut der Forschungsanstalt für Milchwirtschaft „Kiel" bezogen.

Tab. 2. Beeinflussung von Streptococcus thermophilus durch Kefirpulver.

Bebrütungszeit in Std.	enteiweißte Molke	dasselbe mit 3% Kefirpulver
0	3,0 SH	3,0 SH
24	19,0 SH	33,8 SH
48	23,0 SH	39,0 SH
72	23,0 SH	39,0 SH

Tab. 3. Kefir-Extrakt, Nährkasein, Kefermon und Kefirpulver nur als Stickstoffquelle für Bacterium acidophilus.

Bebrütungszeit in Std.	enteiweißte Molke	dasselbe und 3% Kefirextrakt	dasselbe und 3% Nährkasein	dasselbe und 3% Kefermon	dasselbe und 3% Kefirpulver
15	21,3 SH	24,0 SH	37,6 SH	41,0 SH	45,6 SH
23	27,5 SH	30,0 SH	46,4 SH	53,0 SH	54,8 SH
38	36,0 SH	41,0 SH	55,2 SH	64,3 SH	68,4 SH

Tab. 4. Nährkasein, Kefermon und Kefirpulver als Stickstoffquelle für
Thermobacterium jugurt (Jensen) = y,
Thermobacterium helveticum (Jensen) = h,
Thermobacterium bulgarium (Jensen) = b.

Bebrütungszeit in Std.	Molke enteiweißt			dasselbe u. 3% Nährkasein			dasselbe u. 3% Kefermon			dasselbe u. 3% Kefirpulver		
	y	h	b	y	h	b	y	h	b	y	h	b
24 SH:	26,4	37,6	31,4	64,6	63,8	40,4	65,4	77,6	64,8	35,0	64,6	62,0
48 SH:	42,0	62,0	46,6	93,0	100,0	64,0	90,0	113	85,0	72,0	110,0	93,0

Tab. 5. Nährkasein, Kefermon und Kefirpulver als Stickstoffquelle für
Thermobacterium lactis,
Streptococcus faecium,
Streptococcus glycerinaceus.

Bebrütungszeit in Std.	Molke enteiweißt			Magermilch			Nährkasein			Kefermon			Kefirpulver		
	l	f	g	l	f	g	l	f	g	l	f	g	l	f	g
— SH:	3,0			6,0			9,0			10,0			10,0		
19 SH:	7,0	8,8	8,0	15,6	15,8	16,4	10,6	13,4	13,6	14,0	14,6	15,0	18,0	21,4	23,0
24 SH:	7,0	9,8	8,6	19,6	15,8	19,0	13,0	14,2	14,0	18,0	16,6	15,8	23,0	23,0	18,0
39 SH:	12,4	10,8	10,6	24,0	39,6	19,0	16,0	27,0	16,0	21,0	40,8	19,6	27,6	43,8	21,2
45 SH:	13,6	12,5	11,2	26,4	45,8	23,8	27,4	28,4	16,8	22,6	45,0	20,6	30,8	49,5	2,20

Wesentlich höhere Säuregrade erreicht man aber bei Zusatz von 3% Nährkasein, 3% Kefermon oder 3% Kefirpulver. Die verschiedenen Thermobakterien sprechen auf die verschiedenen Eiweißpräparate auch verschieden an. Für Thermobact. jugurt waren Nährkasein und Kefermon gleichwertig, während Kefirpulver eine schwächere Wirkung zeigte. Thermobact. helveticum wurde durch alle 3 Eiweißsorten etwa gleich stark gefördert. Das Thermobact. bulgaricum war am anspruchsvollsten. Nährkasein zeigte deutlich schwächere Wirkung, während Kefir-

pulver und Kefermon beide sehr gut wirkten. Auch bei Bact. acidophilus, dem Bakterium des Säuglingsdarmes, säuerte die Molke bei Zusatz von Kefirpräparaten besser als bei solchem von Nährkasein.

Wie aus Tab. 5 zu entnehmen ist, trifft dasselbe für die Darmbakterien Streptococcus faecium und glycerinaceus zu. Nährkasein ist insbesondere für Strept. faecium, deutlich schlechter als Kefermon und Kefirpulver, was darauf beruhen dürfte, daß dieses Bakterium viel lösliche Stickstoffverbindungen nötig hat.

Faßt man die ganzen Versuche zusammen, so ergibt sich, daß Kefermon für alle Stämme und für Gemische den besten Nährboden abgibt.

Tab. 6. Nährkasein, Kefermon und Kefirpulver neben Milchzucker als alleinige Nährstoffquelle für Thermobakterien.

Bebrütungszeit in Std. bei 40° C	1% Nährkasein	1% Kefermon	1% Kefirpulver	2% Kefirpulver	3% Kefirpulver
		a) Yoghurt			
6	2,6 SH	3,5 SH	2,6 SH	2,6 SH	2,5 SH
24	2,8 SH	10,9 SH	8,8 SH	8,8 SH	5,9 SH
48	5,0 SH	17,6 SH	10,4 SH	10,6 SH	10,4 SH
72	8,0 SH	21,8 SH	11,2 SH	11,0 SH	15,2 SH
p_H nach 72 Std.	3,88	3,83	3,63	3,63	3,73
		b) Thermobacterium helveticum			
6	2,2 SH	3,5 SH	2,5 SH	2,5 SH	2,6 SH
24	5,6 SH	12,6 SH	16,8 SH	12,0 SH	8,0 SH
48	10,0 SH	20,0 SH	19,8 SH	14,6 SH	12,8 SH
72	15,4 SH	34,0 SH	31,0 SH	22,0 SH	16,8 SH
p_H nach 72 Std.	3,83	3,58	3,13	3,38	3,75

Tab. 7. Nährkasein, Kefermon und Kefirpulver neben Milchzucker als alleinige Nährstoffquelle für Thermobacterium acidophilus = a, Streptococcus faecium = f, Streptococcus glycerinaceum = g.

Bebrütungszeit in Stunden		3% Nährkasein			3% Kefermon			3% Kefirpulver		
		a	f	g	a	f	g	a	f	g
16	SH:	15,6	8,6	8,4	24,4	14,0	14,2	24,6	11,0	10,8
25	SH:	23,2	9,4	9,0	30,8	15,0	14,6	29,8	12,4	11,0
40	SH:	29,0	9,6	9,8	38,0	15,6	14,8	37,0	12,6	11,0

In der zweiten Versuchsreihe wurden folgende Kulturen geprüft:

Tabelle 6a. Joghurt, ein Gemisch aus Thermobact. bulgaricum, Thermobact. jugurt und Strept. thermophilus. Tabelle 6b. Thermobact. helveticum. Tabelle 7. Thermobact. acidophilus, Strept. faecium, Strept. glycerinaceum.

Da die Pufferung der Lösung natürlich wesentlich schwächer ist, als wenn man von Molke ausgeht, sind die erreichten Säuregrade bei weitem nicht so hoch. Wie die Tab. 6—7 zeigen, ist auch hier Kefermon für das Wachstum am günstigsten. Nährkasein ist deutlich schlechter. Wie gleichzeitig be-

stimmte p_H-Werte zeigen, sind die höheren Säuregrade nicht durch ein besseres Pufferungsvermögen bestimmt, sondern es müssen insbesondere dem Kasein Nährstoffe fehlen, die für das Wachstum der Thermobakterien notwendig sind. Bei reinem Kefirpulver war die Säuerung nicht so gut wie bei Kefermon, woraus gefolgert wird, daß auch das Kasein lebenswichtige Stoffe enthält, die dem Kefir fehlen. Auch das geringere Pufferungsvermögen des Kefirpulvers gegenüber dem Kasein kann für die geringe Säurebildung nicht verantwortlich gemacht werden, da die 3proz. Kefirlösungen, die besser puffern, nicht einheitlich einen höheren Säuregrad aufweisen. Die Erfahrung, daß ein Zusatz von Kasein zum Kefirpulver für einen Teil der Stämme notwendig ist, wurde auch bei Versuchen mit festen Nährböden bestätigt.

Die vorstehend beschriebenen bakteriologischen Versuche stützen unsere Überlegung, daß es bei der Säuglingsernährung, insbesondere bei Verdauungsstörungen, nicht gleich sein kann, ob man reines Nährkasein (Milcheiweiß) gibt oder ob man dieses Nährkasein noch mit den für das Milchsäurebakterienwachstum wichtigen Stoffen anreichert (Kefermon).

Es kommt bei der Behandlung von Verdauungsstörungen nicht darauf an, nur Kalorien und lebenswichtige Stoffe in Form von Milcheiweiß zuzuführen, sondern auch auf die Beeinflussung der Darmflora, die für die Vorbeugung oder Heilung ebenso wichtig ist. Die Annahme, daß ein durch Kefirpulver vitaminisiertes Nährkasein besser sein muß, als reines Nährkasein, wird schon dadurch wahrscheinlich, daß man dem Säugling, wenn man ihm die Milch entzieht und ihm dafür Milcheiweiß gibt, ja nicht nur den Milchzucker wegnimmt, sondern auch alle lebenswichtigen Salze und Vitamine der Molke. Die vorstehend beschriebenen Versuche über die bakteriologische Wirkung derartiger Milcheiweißpräparate bestätigen dies. Die Bedeutung der Bakteriologie der Darmflora wird noch durch die Ansicht verstärkt, daß die Bakterienflora im Colon die Aufgabe hat, gewisse Vitamine und Wuchsstoffe aufzubauen. Nur so ist es nach Bessau und Reichelt [zitiert nach Neuweiler (5)] erklärlich, daß der recht niedrige Gehalt der Frauenmilch an Vitamin B_1 im Vergleich zu demjenigen der Kuhmilch keine Vitamin-B_1-Mangelerscheinungen hervorruft.

Zusammenfassung.

In Molke werden neuerdings in großen Mengen Kefirpilze gezüchtet, die u. a. zur Herstellung von Milchnährhefe-Präparaten dienen. Gemische aus Kasein und Kefirpulver hatten eine günstigere Wirkung auf das Milchsäurebakterien-Wachstum als reines Kasein. Auf die Bedeutung derartiger Milchnährhefen und Kaseinpräparate (Kefermon) für die Entwicklung der Darmflora beim Säugling wird hingewiesen.

Literatur.

1. Henneberg, W., Handbuch der Gärungsbakteriologie. 2. Aufl. P. Parey, 1926. Bd. 2. S. 143—152. — 2. DRP. 663 690 Kl. 53 g 3 02. Bayerische Milchversorgung mit dem Sitz in Nürnberg vom 13. 12. 1935, ausgegeben 11. 8. 1938: Verfahren zur gleichzeitigen Gewinnung von eiweißreichen Futtermitteln und Alkohol aus Restmilch. — 3. Wagner-Jauregg, Flavine, B-Vitamine. (Ztschr. f. angew. Chemie. Bd. 47. 1934. S. 318, 547.) — 4. Schulz, M., Die Bedeutung der Vitamin B_2-Forschung für die Milchwirtschaft. (Dtsch. Molkerei-Zeitung, Kempten 1935, Folge 46.) — 5. Neuweiler, Bern, Über den Gehalt der Frauenmilch an Vitamin B_1 und seine Beeinflußbarkeit durch die Ernährung. (Klin. Wochenschr. Nr. 9. 1938. S. 296.)

Nachdruck verboten.

Beschreibung einiger neuer Pilzarten aus dem „Centraalbureau voor Schimmelcultures" Baarn (Holland).

V. Mitteilung.

Von **F. H. van Beyma thoe Kingma.**

Mit 6 Abbildungen im Text.

Margarinomyces luteo-viridis nov. spec.

Dieser Pilz, von schweizerischer Butter isoliert, wurde dem C.B.S. von Dipl.-Ing. J. Hoffmann aus Suhr (Schweiz) zugesandt unter der Bezeichnung „B". Er wächst auf Agar-Nährböden in großen zottigen Kolonien, welche, besonders auf Kirsch-Agar, eine lebhaft gelbe bis grüngelbe Farbe zeigen; die Unterseite der Kolonien ist dunkelorange. Im Alter wird der Pilz mehr filzig und nimmt eine dunklere Farbe an, mit grauen und grünen Tönen, besonders am Rande, wo er fast schwarz wird. Die Konidien werden in großen Massen an einfachen, mehr oder weniger flaschenförmigen Trägern einzeln gebildet; bei üppigem Wachstum und in feuchter Umgebung bleiben die Konidien aneinander haften, so daß Köpfchen entstehen.

Es ist hier der Ort, etwas näher auf die Gattung Margarinomyces einzugehen. In der Veröffentlichung von Prof. Laxa (Zentralbl. f. Bakt., Abt. II, Bd. 81 (1930), S. 392 ff.) wurde der Typus dieser Gattung beschrieben, nachdem Prof. Bubák den von Butter stammenden Pilz bereits untersucht und als zu einer neuen Gattung gehörig erkannt hatte. Jedoch wurde die systematische Stellung des Pilzes nur ganz flüchtig berührt mit der Bemerkung, der Pilz bilde längliche, gekrümmte Konidien, so daß er der Gattung Fusarium nahestehen müsse. Eine Beschreibung der Gattung fand nicht statt. Dem Centraalbureau wurde der Laxa'sche Pilz damals sofort zugeschickt. Auch wurde dieser Organismus hier in Holland wiederholt von Butter isoliert. Das nähere Studium ergab, daß der Pilz mit der Gattung Fusarium, die bekanntlich zur Formfamilie der Tuberculariaceae gehört, nichts zu tun hat, sondern der Formfamilie der Dematiaceae einzureihen ist und zwar gehört er in die Abteilung Phaeosporae, Unterabteilung Trichosporieae. Von Trichosporium unterscheidet Margarinomyces sich durch die Anwesenheit von flaschen- bis birnförmigen Sterigmen, welche auch verzweigt sein können und oft in Gruppen beisammen stehen, von Rhinocladium durch die Abwesenheit von kleinen, die Konidien tragenden Zähnchen. Die Konidien sind zwar hyalin, höchstens leicht gefärbt, doch kommt dies auch wohl bei Trichosporium vor und scheint die Einreihung in die Abteilung Phaeosporae auf Grund der dunkelfarbigen Hyphen dennoch gerechtfertigt. Die Beschreibung der Gattung würde sich wie folgt gestalten:

Margarinomyces Laxa emend. van Beyma.

Hyphen kriechend, oft zu Strängen vereint, braun, zahlreiche Tröpfchen enthaltend. Konidienträger flaschen- bis birnförmig, mitunter verzweigt, an den Hyphen entlang oder in Gruppen beisammen stehend. Konidien endständig oder (und) seitenständig an den Trägern, zahlreich, ellipsoi-

disch oder gekrümmt, meist mit zwei Öltröpfchen, glatt, hyalin bis braun gefärbt. Chlamydosporen kommen vor.

Lateinische Beschreibung.

Hyphis repentibus, saepe fasciculatis brunneis dense guttulatis. Conidiophoris lagoeni vel piriformibus, interdum ramosis singulis vel fasciculatis. Conidiis acrogenis vel (et) pleurogenis numerosis ellipsoideis vel curvatis, plerumque biguttatis, levibus hyalinis vel brunneis. Chlamydospora occurrunt.

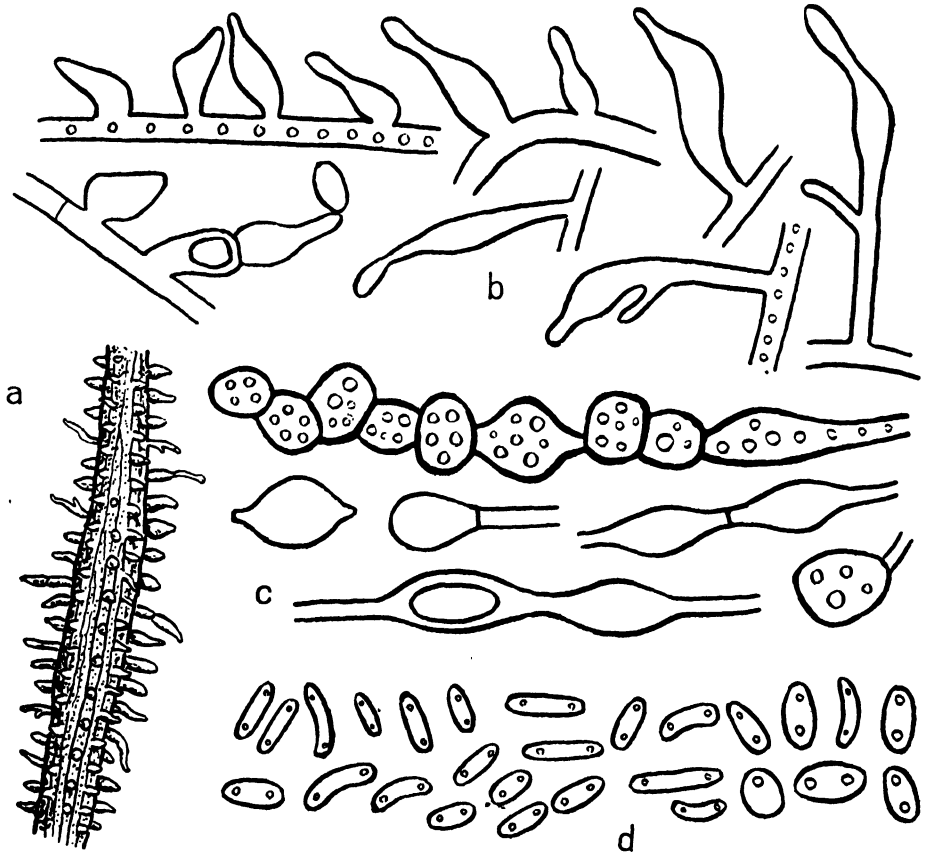


Abb. 1. Margarinomyces luteo viridis: a) Myzelstrang mit Konidienträgern. Vergr. 490 ×; b) Konidienträger. Vergr. 1500 ×; c) Chlamydosporen. Vergr. 1500 ×; d) Konidien. Vergr. 1500 ×.

Die Beschreibung des Pilzes lautet folgendermaßen:

Margarinomyces luteo-viridis nov. spec.

Decke zottig-filzig, meist sehr zu Strangbildung geneigt, anfangs lebhaft gelb bis grüngelb, später dunkler mit graugrünen oder schwarzen Tönen. Hyphen braun, spärlich septiert, mit zahlreichen Tröpfchen im Innern.

Konidienträger als Ausstülpungen am Myzel entstehend, später mehr oder weniger flaschen- bis birnförmig, meist unverzweigt 6—10 μ hoch,

an der breitesten Stelle 3—4 μ dick, oft in großer Zahl an den Hyphen entlang stehend.

Konidien massenhaft, acrogen und pleurogen an den Trägern entstehend, von verschiedener Gestalt und Größe, länglich mit abgerundeten Enden, ei- und ellipsenförmig, bisweilen etwas wurstförmig gekrümmt, mit einem oder zwei kleinen Öltröpfchen oder wolkiger Inhalt, 4,7 — 7,3 × 1,3 — 3,3 μ, meist 5,3 — 6,3 × 2,3 — 2,7 μ, hyalin bis leicht gefärbt.

Chlamydosporen in älteren Kulturen auftretend, sowohl intercalar wie terminal, einzeln oder in Ketten, kugelig bis tonnenförmig, glatt, bräunlich, mit Öltropfen im Innern, 6,3 — 10,7 × 4,3 — 6,7 μ.

Reinkulturen.

Auf Bierwürze-Agar in einer Petrischale nach 5 Tagen: Kolonie 2 × 3 cm, gelb, 203 C — 221, stellenweise 216, filzig, von weißen Hyphenbündeln überwachsen. Um die Kolonie herum ein farbloser Saum, etwa 1 mm breit. Kein Geruch. Unterseite intensiv orange, 126—151[1]).

Desgleichen nach 14 Tagen: Kolonie 3½ cm im Durchmesser, am Rande flach filzig, im Zentrum mehr zottig-filzig, mit mehreren Hyphenbündeln. Farbe im Zentrum 246—203 D, mitunter dunkler, 262—242, nach dem Rande hin 253 D—261. Unterseite intensiv dunkelorange, Farbe zwischen 102 und 103, am Rande 126—101. Kein oder nur schwacher Geruch.

Auf Röhrchen nach 14 Tagen:

Auf Bierwürze-Agar: Violettschwarze Haut, worauf stellenweise gelbe filzige Myzelbüschel, 271—221. Rückseite intensiv rotorange, 54—30, oder noch dunkler. Agar gelb gefärbt.

Auf Kirsch-Agar: filzig-wollige Decke, 203 D—252—207—212.

Auf Möhre: nur oben etwas filziges, graugelbes Myzel, sonst häutige Decke, orange, 128, feucht, mit einzelnen Hyphenbündeln. Rand am Glase 178—177. Schlechtes Wachstum.

Auf Kartoffel: nur oben eine kleine Kolonie, häutig. Schlechtes Wachstum.

Auf Reis: ganz durchwachsen, oben wolliges Myzel, graugelb. Zwischen den Reiskörnern ist das Myzel 157—202, am Glase 77—82.

Auf Haferflocken-Agar: Violettschwarze Haut, oben und unten im Röhrchen orangegelb, 177. Kein Luftmyzel. Agar vom Rande her orangegelb gefärbt. 177.

Auf Kartoffel-Agar: Violettschwarze Haut mit gelben Myzelflocken. In den Agar hinein diffundiert ein gelber Farbstoff.

Hab. Auf schweizerischer Butter (Hoffmann), Suhr (Schweiz).

Auf Margarine aus Tetschen (Tschecho-Slowakei) (Unilever).

Lateinische Beschreibung.

Coloniis in agaro Sabouraud pilosis luteis vel luteoviridibus primum deinde fuscioribus. Hyphae plerumque fasciculatae brunneae septatae guttulatae. Conidiophoris lagoeniformibus vel piriformibus, 6—10 × 3—4 μ, numerosis. Conidiis numerosissimis acrogenis et pleurogenis, ovoideis vel ellipsoideis, nonnumquam guttulatis, plerumque curvatulis, 4,7—7,3 × 1,3—3,3 μ (plerumque 5,3—6,3 × 2,3—2,7 μ), hyalinis vel subcoloratis. Chlamy-

[1]) Code des Couleurs, Klincksieck et Volette (Paris 1908).

dosporis in senioribus culturis nascentibus intercalaribus et terminalibus globosis vel cupiformibus, brunneis, 6,3—10,3 × 4,3—6,7 μ.

Margarinomyces fasciculatus nov. spec.

Dieser Pilz stammt ebenfalls aus schweizerischer Butter und wurde von Dipl.-Ing. J. Hoffmann in Suhr (Schweiz) als Nr. 7 isoliert. Von M. luteo-viridis unterscheidet derselbe sich erstens durch die Farbe, welche graubraun bis schwarzbraun ist und zweitens durch die noch ausgesprochenere Neigung zur Strangbildung. Die Pilzdecke auf Agar-Nährböden besteht aus einem zottigen Filz schwarzbrauner Hyphen, welche sich von einer flachen, braunschwarzen, im auffallenden Licht deutlich violett schimmernden Myzelschicht erheben. Die Unterseite der Kulturen ist schwarzbraun. Ein typischer Geruch fehlt. Auf Sabouraud-Agar in Erlenmeyer-Kölbchen bildet der Pilz eine gelblich-weiße bis graue, zottige Decke, woraus sich im Zentrum bis 1 cm hohe, schwarze, gerade Hyphenstränge erheben, deren Scheitel als kleine Büschel von gelblichgrauen Hyphen auseinander spreizen. Dagegen bildet

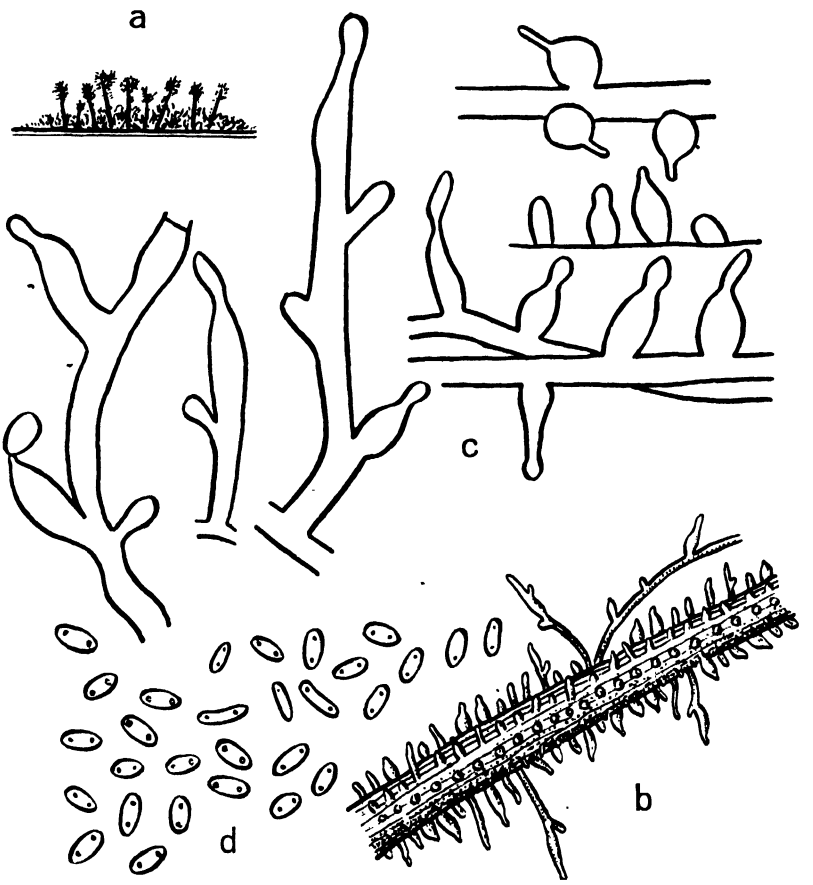


Abb. 2. Margarinomyces fasciculatus: a) Kultur auf Sabouraud-Agar. Nat. Gr.; b) Myzelstrang mit Konidienträgern. Vergr. 490 ×; c) Konidienträger. Vergr. 1500 ×; d) Konidien. Vergr. 1500 ×.

M. luteo-viridis auf demselben Nährboden nur polsterartige filzige Myzelhaufen, welche einer häutigen, grüngelben Decke aufsitzen.

Die Beschreibung des Pilzes lautet wie folgt:

Margarinomyces fasciculatus nov. spec.

Decke nach 1½ Monat auf Bierwürze-Agar zottig durch aufstehende miteinander verfilzte Hyphenbündel, anfangs weiß, bald graubraun, schließlich schwarzbraun werdend. Hyphen braun, spärlich septiert, mit zahlreichen Tröpfchen im Innern.

Konidienträger mehr oder weniger flaschen- bis birnförmig, meist unverzweigt, 10—20 μ lang, an der breitesten Stelle 3,3—4 μ dick, oft in großer Zahl an den Hyphen entlang stehend.

Konidien massenhaft, acrogen und pleurogen an den Trägern entstehend, von derselben Größe, kurz ellipsoidisch, gerade oder etwas gekrümmt, mit zwei Öltröpfchen, 3,3—4,3 × 1,7—2,3 μ, meist 3,3—3,7 × 1,7—2 μ, hyalin bis leicht gefärbt.

Chlamydosporen nicht beobachtet.

Reinkulturen.

Kultur auf Bierwürze-Agar in einer Petrischale nach 14 Tagen: langsam wachsend, Kolonie 4×3 cm. Auf dem Agar eine grauschwarze bis braunschwarze Haut, überwachsen von grauem, krauswolligem, zottigem Myzel. Im Zentrum erheben sich schwarze Hyphenstränge, welche an der Spitze in mehreren Hyphenbündeln auseinander spreizen, mit verästelten, gekräuselten Hyphen. Kein Geruch. Unterseite 82—107—102, mit einzelnen Streifen 83.

Kultur auf Röhrchen nach 14 Tagen:

Auf Bierwürze-Agar: Dünne, leichtbraune, feuchte Haut mit Überwuchs von kurzen, gekräuselten, rosafarbenen Hyphen.

Auf Kirsch-Agar: Schwärzliche Haut mit Überwuchs von kurzen, gekräuselten, grauweißen Hyphen.

Auf Möhre: Oben am Stück eine große, zottige Kolonie, bestehend aus bis 2 mm hohen, aufstehenden Hyphenbündeln, 111—137. Das Stück färbt sich violett-schwarz. Rand am Glase 121.

Auf Kartoffel: Kleine Kolonie oben am Stück, bestehend aus kurzen, aufstehenden Hyphenbündeln, 111.

Auf Reis: 2 cm tief gewachsen. Myzel etwa 222. Die Körner färben sich etwas gelblich. Am Glasrande ist die Farbe 193.

Auf Haferflocken-Agar: Submerse, etwas rötliche Haut. Schlechtes Wachstum.

Auf Kartoffel-Agar: Üppiges Wachstum, schwarze Haut mit violettem Stiche und Überwuchs von braunen Hyphenbündeln.

Hab. Isoliert von schweizerischer Butter aus Suhr (Schweiz) - Hoffmann.

Lateinische Beschreibung.

Coloniae in agaro Sabouraud consistentes numerosis fasciculis hyphorum erectis pellibus ferinis similes, albae primum deinde griseobrunneae vel atrobrunneae. Conidiophoris lagoeni- vel piriformibus, raro ramosis, 10—20 × 3,3—4 μ, numerosis. Conidiis numerosissimis acrogenis et pleurogenis bre-

viter ellipsoideis interdum curvatulis biguttulatis 5,3—4,3 × 1,7—2,3 μ (plerumque 3,3—3,7 × 1,7—2 μ) hyalinis vel subcoloratis.

Margarinomyces Hoffmannii nov. spec.

Herr Dipl.-Ing. Hoffmann in Suhr (Schweiz), dem ich diesen Pilz widmete, isolierte denselben als Kultur „A" von schweizerischer Butter. Auf Sabouraud-Agar wächst er anfangs in großen flachen filzig-häutigen Kolonien, im Zentrum gelblichbraun, am Rande grau-bräunlich mit einem spärlichen Überwuchs von gekräuseltem weißlichen Myzel. Nach einem Monat ist eine dicke runzlige häutige Decke entstanden von orangebrauner Farbe mit gelbgrünlichem Stich, mit zahlreichen radiären, bis zum Rande reichenden Falten. Diese sind teilweise überwachsen von einem gleichgefärbten spärlichen gekräuselten Myzel. Die Art wie die Konidien gebildet werden, sowie die Gestalt der Konidienträger weist auf die Zugehörigkeit zur Gattung Margarinomyces hin. Die Konidien, welche sich in großen Massen acro- und pleurogen an den Trägern bilden, besitzen eine ziemlich verschiedene Größe; ältere Kulturen erzeugen im allgemeinen vorzugsweise kleinere Konidien, jüngere Kulturen größere. Die Konidienträger stehen an den fertilen Hyphen entlang. Jedoch fehlt hier die Strangbildung, welche für M. fasciculatus und M. luteoviridis so typisch ist. Die Hyphen besitzen keine Tröpfchen

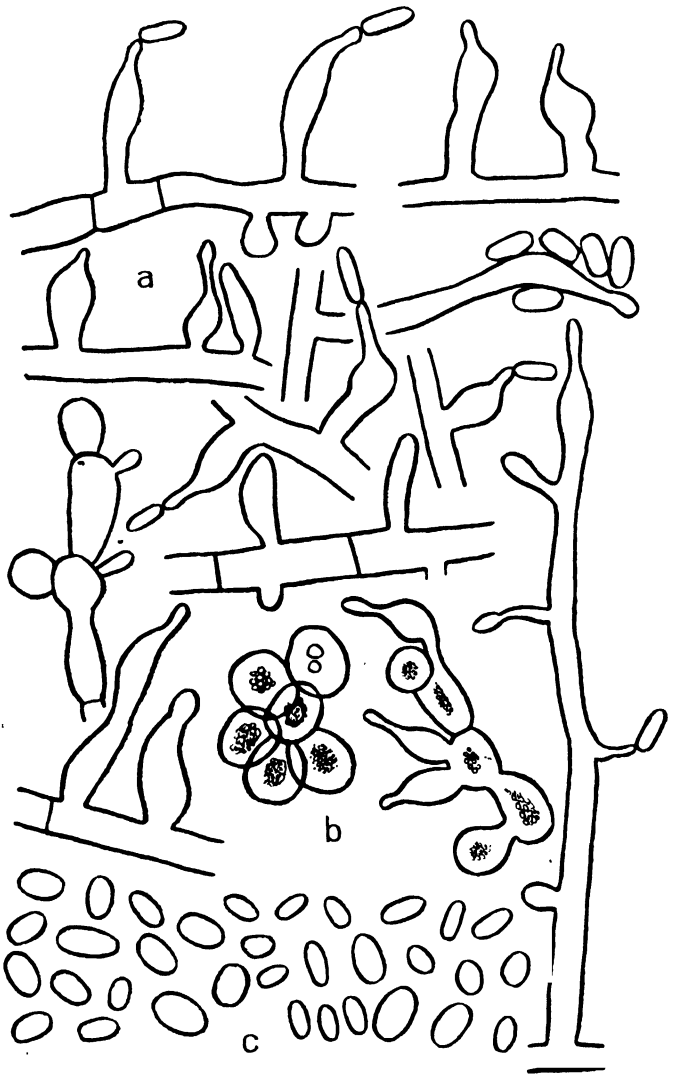


Abb. 3. Margarinomyces Hoffmannii: a) Konidienträger. Vergr. 1 : 1500; b) Kugelzellen. Vergr. 1 : 1500; c) Konidien. Vergr. 1 : 1500.

im Innern und zeigen normale Querwandbildung. Älteres Myzel hat die Neigung in Anhäufungen von Kugelzellen überzugehen, welche jedoch keine Chlamydosporen darstellen. Diese Kugelzellen, 5—8 μ im Durchmesser, sind kugelige oder länglich-runde Gebilde mit dünner Wand und granuliertem Inhalt, welche einzeln hyalin oder leicht braun gefärbt sind, in größeren Massen jedoch eine braune Farbe zeigen. Diese Kugelzellen erzeugen ebensogut Konidienträger wie das normale Myzelium. Eigentliche Chlamydosporen wurden in den Kulturen nicht gefunden. Die Beschreibung des Pilzes lautet wie folgt:

Margarinomyces Hoffmannii nov. spec.

Decke filzig-häutig, anfangs glatt, gelblich braun, später runzelig, dunkelbraun, mit radiären Falten.

Konidienträger als Ausstülpungen am Myzel entstehend, später mehr oder weniger flaschen- bis birnförmig, meist unverzweigt, 12—24 μ (—30 μ) lang, an der breitesten Stelle 3—4 μ dick, einzeln an den fertilen Hyphen entlang stehend.

Konidien massenhaft, acrogen und pleurogen an den Trägern entstehend, von verschiedener Größe bei im allgemeinen gleicher Gestalt, ellipsoidisch bis eiförmig, ohne Öltröpfchen, 3,3—6 × 2—3,7 μ, meist 3,7—4,7 × 2—2,7 μ, hyalin.

Kugelzellen in älteren Kulturen häufig, hyalin bis leicht braun gefärbt mit glatter dünner Wand und granuliertem Inhalt, 5—8 μ im Durchmesser.

Reinkulturen.

Auf Bierwürze-Agar in einer Petrischale nach 16 Tagen: Kolonien 3 cm mit glatter feuchter Haut, 156 im Zentrum, nach dem Rande hin heller, 166—141. Zahlreiche feine Zonen. Rand flach, häutig, scharf. Kein Geruch. Unterseite 161 mit deutlicher Zonenbildung.

Desgl. nach einem Monat: Schale ganz bewachsen mit glatter, feuchter Haut, 133, mit 6 radiären Falten und feingekräuseltem, weißlichem Überwuchs vom Rande her, etwa 2 cm breit. Rand flach, farblos, 1 cm breit. Unterseite mit 5 Spalten, 177, am Rande einige Zonen sichtbar.

Auf Röhrchen nach 14 Tagen:

Auf Bierwürze-Agar: häutige Decke, blaß orangefarben, von kurzem Flaum aus feinen gekräuselten weißen Hyphen überwachsen.

Auf Kirsch-Agar: häutige Decke, etwa 113. Kein Luftmyzel.

Auf Möhre: das Stück einseitig von einer feuchten, rötlichen Haut bewachsen.

Auf Kartoffelstück: kaum angewachsen.

Auf Reis: nur mäßig angewachsen, oben etwas weißliches Myzel, darunter der Reis rötlich verfärbt, etwa 138.

Auf Haferflocken-Agar: eine feuchte, glatte Haut, stellenweise 182.

Auf Kartoffel-Agar: eine feuchte, glatte Haut, 183—187 oder etwas dunkler. Wachstum besser wie vorige.

Hab. Isoliert von schweizerischer Butter (Hoffmann).

Lateinische Beschreibung.

Coloniis in agaro Sabouraud pilosis levibus primum luteobrunneis deinde fuscis rugis radiatim praeditis. Conidiophoris lagoeni- vel piriformibus

ramosis 12—24 × 3—4 μ. Conidiis numerosissimis acrogenis et pleurogenis ellipsoideis vel ovoideis eguttulatis 3,3—6 × 2—3,7 μ plerumque 3,7—4,7 × 2—2,7 μ, hyalinis.

Tilachlidium butyri nov. spec.

Von Dr. Knudsen in Kopenhagen wurde dieser Pilz ebenfalls aus Butter isoliert. Er zeichnet sich auf Agar-Nährböden aus durch die Bildung von bis 1 cm hohen, weißen Koremien, welche aus rundlichen, gelbbraunen Myzelpolstern aufragen. Die Koremien bestehen aus einem Stiel, aus fädigen Hyphen zusammengesetzt, von dem aus nach allen Seiten die Sekundärzweige in dichten Massen abstehen. Nach der Spitze zu nehmen letztere an Größe ab. Die Sekundärzweige sind anfangs unverzweigt, später weisen sie 1—2 Seitenästchen auf; diese sind gerade, spitz zulaufend und schnüren

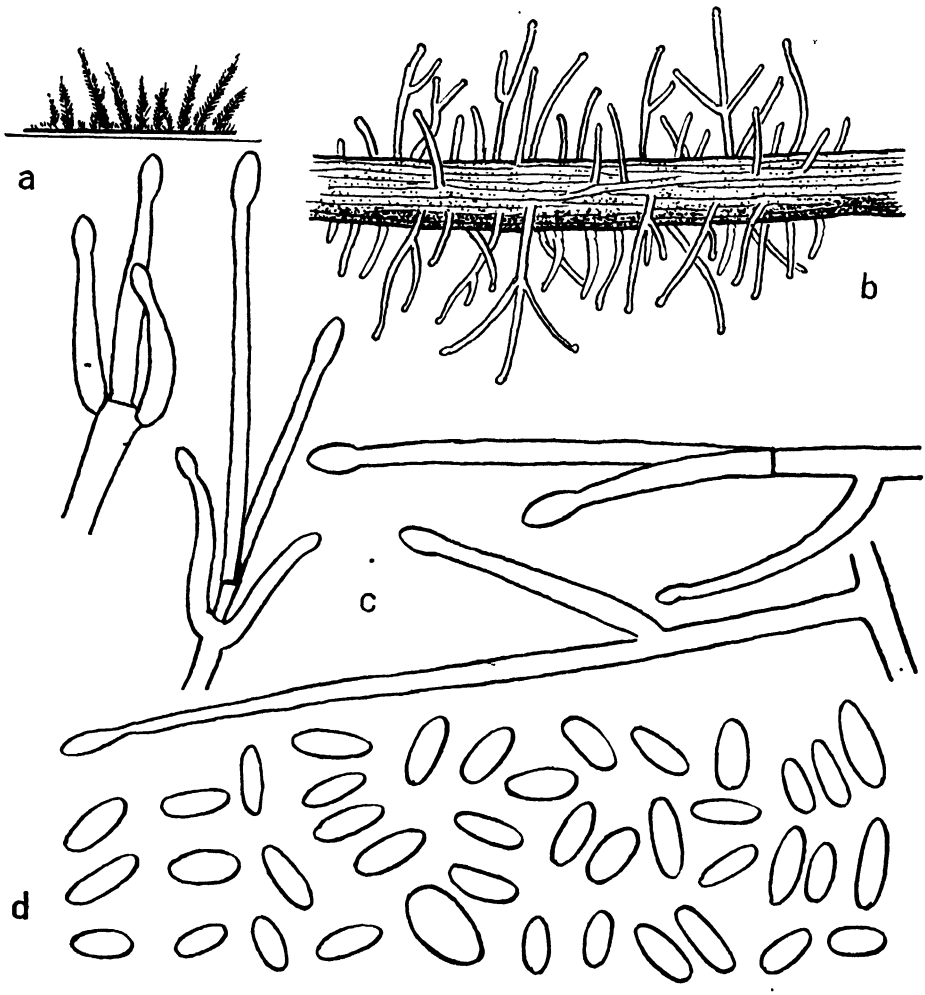


Abb. 4.
Tilachlidium butyri: a) Kultur auf Sabouraud-Agar. Nat. Gr.; b) Sekundäre Zweige. Vergr. 490 ×; c) Konidienträger. Vergr. 1500 ×; d) Konidien. Vergr. 1500 ×.

am Scheitel die Konidien einzeln ab, wo sie durch eine schleimige Flüssigkeit zu kleinen Köpfchen verkleben. Allmählich nehmen auch die weißen Koremien eine gelbgrüne, später gelbbraune Farbe an und wachsen zu mehr oder weniger koremienartigen gelbgrünbraunen Polstern aus; es kommt vor, daß auf die Dauer hieraus wiederum weiße konidientragende Myzelstränge hervorgehen. Der Geruch auf Bierwürze-Agar ist honigähnlich.

Die Beschreibung des Pilzes gestaltet sich folgendermaßen:

Tilachlidium butyri nov. spec.

Koremien ½—1 cm hoch, zahlreich, schneeweiß, im Alter gelbgrün bis gelbbraun werdend, aus fädigen Hyphen bestehend, über die ganze Länge mit nach der Spitze zu in Größe abnehmenden Sekundärzweigen besetzt.

Sekundärzweige anfangs unverzweigt, später mit 1—2 Ästchen, oft angedrückt, an der Basis 2,7—3,3 μ dick, spitz zulaufend, am Scheitel die Konidien einzeln abschnürend.

Konidien massenhaft, ellipsoidisch, mitunter einerseits etwas verschmälert, hyalin, 5,3—6,7 × 2,3—3,3 μ, in 8—12 μ großen Köpfchen zusammenklebend.

Reinkulturen.

Auf Bierwürze-Agar in einer Petrischale nach 10 Tagen: Kolonie 3×2½ cm, sich nur langsam ausbreitend, flach, häutig, gelbgrün bis gelbbraun, mit intensiv orangefarbenem Saum von 1 mm Breite, Farbe 132—136. Um das Impfstück herum etwas weißes Myzel, woraus 3—4 mm lange, weiße Koremien aufsteigen, sehr zart, mit kurzen Seitenästchen und kahler Spitze. Unterseite der Kultur intensiv orange, 102—103. Desgleichen nach 2 Monaten: Decke polsterartig-zottig, gelbgrün bis gelbbraun im Zentrum, am Rande gelbbraun. Unterseite: im Zentrum schwarzbraun, nach dem Rande hin gelbgrün.

Auf Röhrchen nach 14 Tagen:

Auf Bierwürze-Agar: eine glatte, feuchte, submerse Haut, schön rosafarben, mit langen, farblosen, aufstehenden Hyphenbündeln. Rückseite gelblich.

Auf Kirsch-Agar: die flachwollige Decke bildet ein Netzwerk, besetzt mit zahlreichen kleinen Konidienköpfchen, etwa 293—298, am Rande mit Hyphenbündeln, 297. Rückseite intensiv orangerot.

Auf Möhre: Nur zum Teil bewachsen mit einer feuchten, glatten Haut. Farbe etwa 86, fast ohne Luftmyzel. Das Stück nur wenig gefärbt. Rand der Pilzhaut am Glase 177.

Auf Kartoffel: Nur oben eine kleine Kolonie mit glatter, feuchter Haut, rosafarben. Im Zentrum einige Hyphenbündel, ganz oben etwas wolliges, weißes Myzel.

Auf Raulin-Agar: kleine, wollige Kolonie, gelblich, 228 A—B, am Rande orange, 157—153. Rückseite intensiv orange, etwa 104.

Auf Reis: der Pilz ist etwa 2 cm tief eingedrungen. Oben etwas weißes Myzel, meist Stränge bildend. Der Reis etwa 248, am Glase 157.

Auf Haferflocken-Agar: submerses Myzel, 116—111.

Auf Kartoffel-Agar: etwas Luftmyzel in Strängen wachsend auf einer flachfilzigen Decke, verschiedenfarbig: im Zentrum rostrot, am Rande oben violett, unten orange. Rückseite im Zentrum 102—107, am Rande 83—84.

Hab. Auf Butter in Dänemark (Knudsen).

Lateinische Beschreibung.

Synnematibus in agaro Sabouraud ½—1 cm altis numerosis primum niveis deinde luteoviridibus vel luteobrunneis, dense fasciculatis. Ramulis secundariis simplicibus primum deinde 1—2 ramiculis praeditis, basi 2,7—3,3 μ crassis, ad apicem attenuatis ibique conidia efformantibus. Conidiis numerosissimis ellipsoideis hyalinis 5,3—6,7 × 2,3—3,3 μ in capitulis falsis 8—12 μ crassis muco agglutinatis.

Scopulariopsis danica nov. spec.

Aus dem Serumlaboratorium in Kopenhagen sandte Chr. Werdelin dem C.B.S. die Kultur einer Scopulariopsis, die aus der Haut eines an Trichophytie erkrankten Pferdes isoliert worden war. Der Pilz weist äußerlich große Ähnlichkeit mit Scop. brevicaulis, insectivora

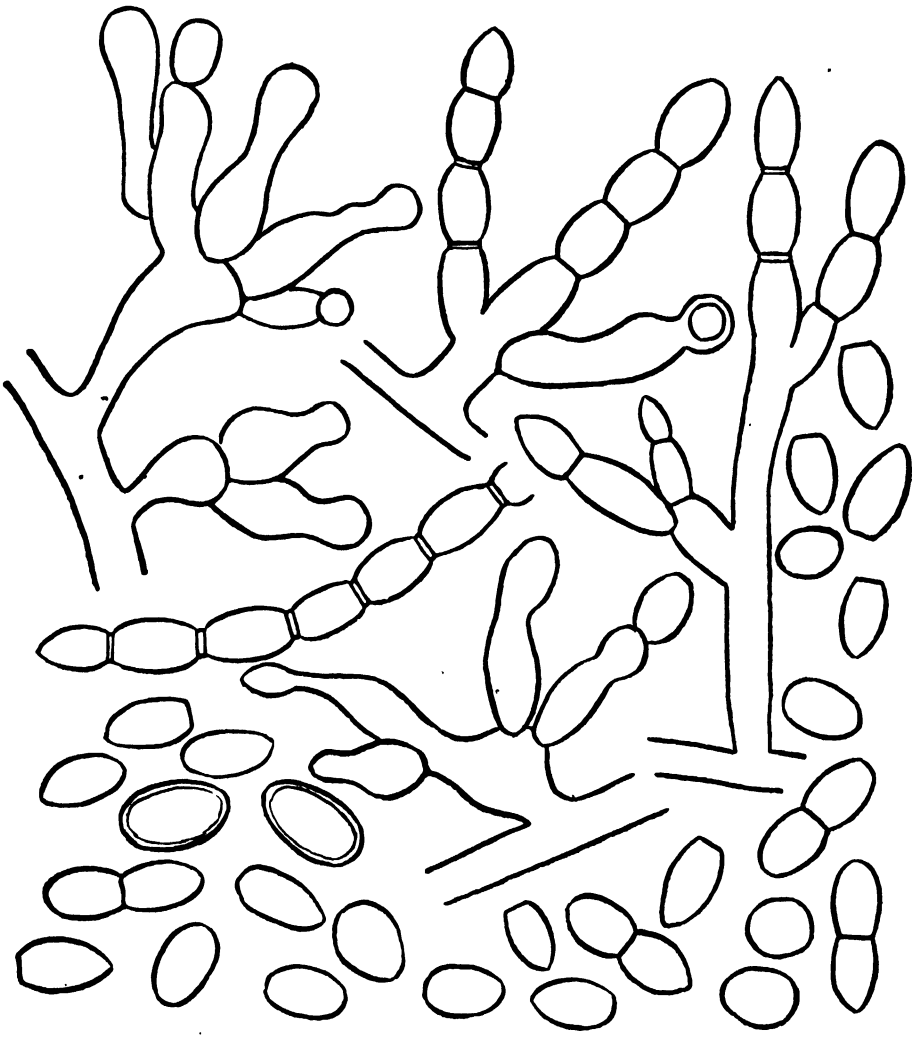


Abb. 5.
Scopulariopsis danica: Konidienträger und Konidien. Vergrößerung 1500×.

und rufulus auf, weicht jedoch von diesen Arten durch die ovalen und glatten Konidien ab. Wir konnten den Pilz mit keiner der im Schrifttum beschriebenen Arten identifizieren. Wie die meisten Scopulariopsis-Arten, besonders der brevicaulis-Gruppe, wächst der Pilz sehr gut auf sterilisierten Kartoffelstückchen. Die Beschreibung lautet wie folgt:

Scopulariopsis danica nov. spec.

Hyphen, vegetative sowohl wie fertile sehr zart und dünn, meist 1,3—2 μ breit (—2.7 μ) spärlich und undeutlich septiert, mit granuliertem Inhalt, hyalin bis leicht gefärbt.

Konidienträger entweder fast fehlend oder als ein Büschel kurzer Stiele wirtelig am Ende einer zarten Hyphe.

Sterigmen von unregelmäßiger Gestalt, meist flaschenförmig, etwa 4 μ breit, oft mit 1 oder 2 Septen, einzeln oder zu Büscheln vereinigt.

Konidien in langen geschlängelten Ketten mit deutlichen Disjunktoren, eiförmig bis breitoval, am oberen Ende stumpf zugespitzt, an der Basis etwas schief abgestutzt, einzeln hyalin, in großen Massen hellgelbbraun, ältere Konidien mit granuliertem Inhalt und doppelter Membran, 5,7—8,3 × 4—5,3 μ (meist 6,3—7,3 × 4,3 ×5,3 μ), Mittel aus 100 Sporen 6,7 × 4,7 μ.

Perithezien oder Sklerotien wurden nicht beobachtet.

Reinkulturen.

Auf Bierwürze-Agar in einer Petrischale nach 14 Tagen: Kolonie 3½ cm, flach krauswollig, puderig, leicht gelbbraun gefärbt, in Zonen, nach dem Rande hin in submerses Myzel übergehend. Kein Geruch. Unterseite etwas gelblich.

Auf Röhrchen nach 14 Tagen:

Auf Maismehl-Agar: dünne puderige Schicht, fast nur aus Konidien bestehend, hellgelbbraun bis etwa 272.

Auf Kartoffel-Agar: flachwollige, dünne, gelblichweiße Decke. Schlechtes Wachstum.

Auf Haferflocken-Agar: häutig mit flacher Konidiendecke, 272—247.

Auf Kartoffelstück: Üppiges Wachstum, dicke Haut mit Falten, welche von puderigen Krusten, aus Konidien bestehend, überdeckt sind, hellgelbbraun.

Hab. Isoliert von einem an Trichophytie erkrankten Pferde in Dänemark (Chr. Werdelin).

Lateinische Diagnose.

Conidiophora interdum pene desunt aut sunt velut fascis brevium pediculosum verticillata in apice hyphorum. Sterigmata formae anomalae sunt interdum lagoeniformia plus minus 4 μ crassa saepe 1—2 septis praedita simplicia vel fascicula efformantia. Conidia longas curvatas catenas efformant manifestis disjunctoribus ovoidea vel ovata obtuso apice basi plus minus obliquiter deseccato hyalina in massis magnis subflavi-brunnea 5,7—8,3 × 4—5,3 μ plerumque 6,7—7,3 × 4,3—5,3 μ. Non observavi perithecia vel sclerotia.

Penicillium humuli nov. spec.

Dieses Penicillium wurde dem Centraalbureau im Februar 1936 von Herrn Prof. Dr. H. Schnegg in Weihenstephan zugeschickt, der es von Hopfen (Humulus lupulus (L.) isolierte. Es wurde von uns als eine neue Art erkannt, deren Beschreibung weiter unten folgt[1]). Ch. Thom,

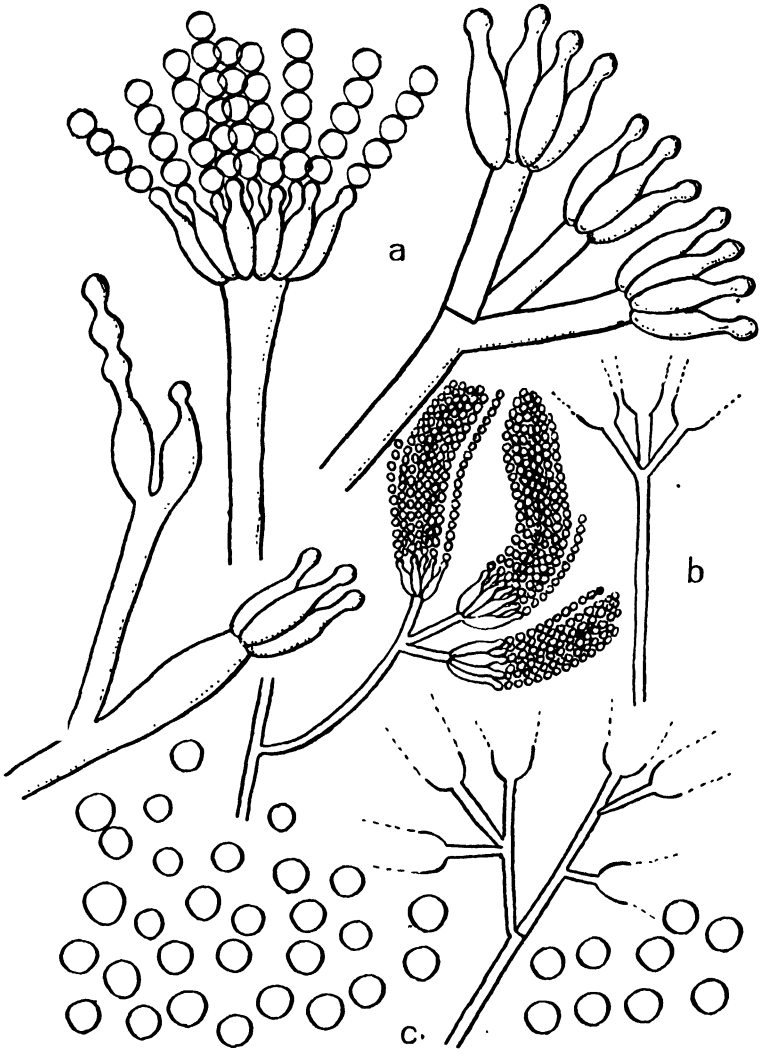


Abb. 6. Penicillium humuli: a) Konidienträger. Vergr. 1 : 1500; b) Desgl. Vergr. 1 : 490; c) Konidien. Vergr. 1 : 1500.

dem wir das Penicillium zuschickten, war so liebenswürdig, uns sein Urteil über dasselbe zukommen zu lassen. Er betrachtet das Penicillium ebenfalls als neu, teilt dasselbe in die Gruppe Lanata-divaricata ein und stellt es in die Nähe des P. lilacinum. Nach unserer Meinung muß

[1]) Herrn Prof. Schnegg möchten wir an dieser Stelle dafür danken, uns die Beschreibung der unbekannten Art freundlichst überlassen zu haben.

das Penicillium, mikroskopisch betrachtet, in der Tat zu der obengenannten Gruppe gerechnet werden. Vom Hauptast gehen einfache oder verzweigte Äste ab, welche meist derartig divergieren, daß jeder Ast, dem oft die Sterigmen direkt aufsitzen, einem monoverticillaten Konidienträger gleicht, wie das für die Gruppe Lanata-divaricata typisch ist. Makroskopisch zeigt es jedoch kein wolliges Wachstum, wie die genannte Gruppe erfordert, sondern die Decke ist sammetartig-puderig, so daß es nicht möglich ist, es zwanglos in eine der von Thom aufgestellten Gruppen unterzubringen.

Das Penicillium wächst gut auf Bierwürze und Kirsch-Agar, dagegen auffallend schlecht auf kohlehydrathaltigen Nährböden. Es breitet sich nur langsam aus und zeigt nach einer Woche eine auffällige gelbgrüne Farbe, etwa zwischen 321 und 267 C.d.C. Der Rand ist wie ausgefranst, grünlich weiß, von einem 2 mm breiten farblosen Saum umgeben. Der Geruch ist schwach oder fehlend.

Die Beschreibung gestaltet sich folgendermaßen:

Penicillium humuli nov. spec.

Konidienträger etwa 50—60 μ lang und 3—4 μ dick, glatt, zum größten Teil unverzweigt, nur unterhalb des Scheitels geht oft ein kleiner Seitenast ab. Am Scheitel verzweigen die Träger sich mit 2—5 Ästen, 12—24 μ lang und 3—4 μ dick, welche je einen einzelnen Wirtel von Sterigmen tragen, so daß Metulae oft fehlen.

Metulae oft fehlend, 15—20 × 3,3—4 μ.

Sterigmen flaschenförmig mit kurzem Halse, 10—12 μ lang und 3,3—3,7 μ breit, nach oben sich keulenförmig etwas verbreiternd bis zu 4 μ, 4—8 an der Zahl.

Konidien kugelig bis subglobos, 2,7—4 μ, meist 3,0—3,7 μ, glatt, einzeln hyalin, in langen parallelen oder divergierenden Ketten ohne Disjunktor.

Reinkulturen.

Auf Bierwürze-Agar in einer Petrischale nach 5 Tagen: Langsam sich ausbreitende Kolonie, 2 cm im Durchmesser, flach bis leicht hügelig, puderig durch Konidienbildung, oft im Zentrum etwas uneben und faltig, 272—267. Rand etwas heller, flach ausstrahlend, wie ausgefranst. Farbloser Saum 1—2 mm. Einige Zonen sind sichtbar. Kaum Geruch. Unterseite 192—141.

Desgl. nach 10 Tagen: Kolonien flach puderig mit ausgefransten Rändern, in schönen Zonen. Farbe zwischen 267 und 317 oder 297. Unterseite im Zentrum der größeren Kolonien 164, sonst 287.

Auf Röhrchen nach 5, bzw. 10 Tagen:

Auf Bierwürze-Agar flach puderig, der Impfstrich etwas erhöht, Farbe zwischen 317 und 292 im Zentrum, nach dem Rande hin 267—272. Rand flach faserig, fast weiß. Rückseite 136. Desgl. nach 10 Tagen: Konidienfarbe zwischen 312 und 317. Rückseite 113—118.

Auf Kirsch-Agar: wie vorige.

Auf Möhre: $\frac{3}{4}$ bewachsen, Haut puderig mit Falten, 297—267. Rand flach, weiß. Desgl. nach 10 Tagen: Farbe zwischen 267 und 317.

Auf Kartoffelstück: Schlechtes Wachstum. Dünner, puderiger Belag, weiß bis 353 B. Desgl. nach 10 Tagen: Schlechtes Wachtum, etwas grünweißes Myzel.

Auf Raulin-Agar: flach-puderig, üppiges Wachstum. Farbe zwischen 317 und 297—292. mit tiefen Querfalten, am Rande flach, heller, 272. Desgl. nach 10 Tagen: Im Zentrum der Kolonien ist die Farbe zwischen 317 und 297, am Rande 317.

Auf Reis: kaum angewachsen. Desgl. nach 10 Tagen: kaum angewachsen.

Auf Haferflocken-Agar: Impfstrich eben ergrünt, 317. Desgl. nach 10 Tagen: ebenso.

Hab. Isoliert von Hopfen (H. Schnegg, Weihenstephan).

Lateinische Diagnose.

Coloniis velutinose pulverulentis luteoviridibus zonatis. Conidiophoris 50—60 × 3—4 μ levibus fere omnino simplicibus modo interdum subapice ramificantibus. Apice conidiophora ramificant 2—5 ramiculis 12—24 × 3—4 μ verticillatis sicut metulae plerumque desint si adsunt 15—20 × 3,3—4 μ. Conidiis globosis vel subglobosis 2,7—4 μ plerumque 3—3,7 μ levibus hyalinis longas parallelas vel divergentes catenas efformantibus sine disjunctore.

Zusammenfassung.

Es wurden folgende Pilze neu beschrieben:
Margarinomyces luteo-viridis, Margarinomyces fasciculatus, Margarinomyces Hoffmannii, Tilachlidium butyri, Scopulariopsis danica, Penicillium humuli.

Nachdruck verboten.

Zur Lebensgeschichte von Heterodera schachtii maior (Nematodes).

Von **H. Goffart,**
Dienststelle für Nematodenforschung bei der Biologischen Reichsanstalt, Zweigstelle Kiel.

Mit 1 Abbildung im Text.

Nach Untersuchungen von Schmidt unterscheidet sich der Hafernematode (Heterodera schachtii maior) von der bekannteren Form, dem Rübennematoden (Heterodera schachtii minor) morphologisch hauptsächlich dadurch, daß sich in den Hafernematodenzysten zwei durch ihre Größe deutlich voneinander unterschiedene Larven befinden. Während die größeren Larven, deren Länge $>0{,}520$ mm ist, als die eigentlichen Schädlinge des Getreides, besonders des Hafers, gelten, werden die kleineren als „Kümmerformen" angesehen, da viele von ihnen Knickstellen in der Kutikula aufweisen oder geplatzt sind. Meist sind auch die inneren Organe unvollständig oder gar nicht ausgebildet. Mit Unterstützung des Forschungsdienstes konnten im Rahmen von Untersuchungen über die Biologie und Bekämpfung des Hafernematoden weitere Beobachtungen zur Frage der „Kümmerformen" gesammelt, sowie andere bisher noch nicht geklärte Fragen aus der Lebensgeschichte des Schädlings bearbeitet werden. Hierüber soll nachfolgend berichtet werden.

1. „Kümmerformen" werden bei allen Rassen von Heterodera schachtii in größerer oder kleinerer Menge angetroffen. Sie haben ihren Ursprung sehr wahrscheinlich in ungünstigen Ernährungsverhältnissen. Zahlreiche „Kümmerformen" finden sich besonders beim Hafernematoden, der für Untersuchungen über Entstehung und Entwicklung solcher Formen sich als am besten geeignet erwies.

Im Juli 1937 wurden mehrere hundert Zysten von Haferpflanzen abgepflückt und in sterilisierte Erde gebracht. Der Inhalt der weißen Körperchen bestand zu dieser Zeit aus einer mehr oder weniger differenzierten Masse, in der sich noch Stücke einzelner Organteile, z. B. des Darmes, erhalten hatten. Im September ausgeschlämmte Zysten waren noch prall mit Brut gefüllt. Sie setzten sich in Wasser-Aufschwemmungen nicht am Rande des Gefäßes fest, sondern gingen unter. Von diesen wurden 50 Zysten geöffnet und in ihnen unsegmentierte Eier sowie Embryonen angetroffen. Nur in 2 Zysten fanden sich Larven, die aber anscheinend durch das Quetschen der Dauerformen aus den Eischalen freigeworden waren und bereits eine gestreckte Form angenommen hatten. Die erste Zyste enthielt 35 gesunde Larven, die zweite, welche teilweise von Pilzmyzel durchzogen war, 50 Larven, von denen 6 Tiere durch Knickstellen im Körper als „Kümmerformen" kenntlich waren. Diese hatten eine Länge von 0,451—0,528 mm. Sie entsprachen somit den Tieren, die auch Schmidt für Kümmerlinge angesehen hat. Das Auftreten von minderwertigen Formen macht sich also bereits in der Frühzeit der Entwicklung bemerkbar. Werden die Larven einer solchen Zyste ihrer Größe nach in Klassen geordnet, so zeigt die entstehende Kurve einen wenig ausgesprochenen Verlauf, da die Tiere noch nicht ihre endgültige Größe erreicht haben. Dieses Bild ändert sich aber schon im Oktober wesentlich. Von mehreren Zysten, deren Inhalt genauer untersucht wurde, enthielt eine zahlreiche zerknitterte und großenteils verpilzte Larven, eine andere dagegen „Kümmerformen", die noch sämtlich gesund aussahen (Abb. 1). Bei der Aufstellung der Variationskurve erkennt man bereits die Ausbildung zweier Gipfelpunkte. Der durch die „Kümmer-

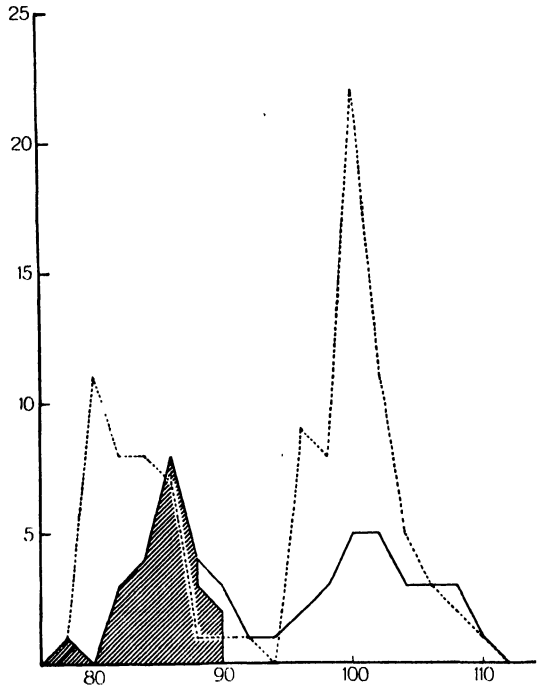


Abb. 1. Größe der Larven zweier Zysten des Hafernematoden Anfang Oktober 1937. Abszisse: Größe der Larven in $\tau = 5{,}5\ \mu$, Ordinate: Zahl der Larven. Die Kümmerformen der einen Zyste werden von der schraffierten Fläche dargestellt.

formen" gebildete Mittelwert deckt sich dabei praktisch stets mit dem des Rübennematoden (Minor-Form). Aus dieser Tatsache könnte man auf eine Kreuzungsmöglichkeit zwischen dem Hafer- und dem Rübennematoden schließen. Da aber, wie Schmidt nachweist, Gründe vorhanden sind, die zumindest zur Vorsicht in dieser Richtung mahnen — eigene diesjährige Beobachtungen bekräftigen die Ansicht —, ist es wahrscheinlicher, in der Zweigipfeligkeit den Ausdruck eines pathologischen Zustandes zu sehen.

Wie oben bereits mitgeteilt wurde, treten neben stark verpilzter Brut und zerknitterten Larven oft gesunde Individuen auf, die ihrer Größe nach zu den „Kümmerformen" gehören müßten. Die unterbrochene Linie in Abb. 1 stellt die Größe von Larven einer Zyste dar, die sogar sämtlich ein gesundes Aussehen hatten. Wenn von diesen auch später noch der größte Teil zugrunde geht, so scheint doch wenigstens ein kleiner Teil von ihnen imstande zu sein, die sie umschließende Hülle lebend zu verlassen. Bei Versuchen, die im April 1938 im Thermostaten durchgeführt wurden, schlüpften z. B. in einem Falle 55 Larven aus, von denen 10 gesunde Tiere eine Größe von 0,401—0,517 mm hatten. Unter diesen mögen sich natürlich auch solche befunden haben, die man als extreme Minusvarianten der Maior-Formen ansprechen könnte. Zahlreiche Beobachtungen, die mit dem Ziel durchgeführt wurden, Kümmerformen im Gewebe der Haferwurzel festzustellen, verliefen jedoch ergebnislos. Nur gesunde Maior-Larven waren imstande, in die Haferwurzeln einzuwandern.

Der Anteil der Kümmerformen in den Zysten ist sehr schwankend. Nach Schmidt soll er durchschnittlich ein Fünftel des Gesamtinhaltes einer Zyste betragen. Nach eigenen Beobachtungen kann er bis zu zwei Drittel des Brutinhaltes ansteigen. Selbstverständlich ergibt sich ein höherer Anteil der Kümmerlinge bei einer Untersuchung im Frühjahr, zu einer Zeit, wenn bereits ein Teil der gesunden Larven die Hüllen verlassen hat und die Kümmerformen noch nicht durch Pilze oder Bakterien zerstört worden sind. Abb. 1 weist übrigens auch bereits auf das Vorhandensein einiger schlüpfreifer Larven hin. Wir kommen hierauf später noch zu sprechen.

2. Welchen Weg wählen die jungen Larven, um ins Freie zu gelangen? Nach Wülker entleert sich bei Heterodera die Nachkommenschaft unter dem Einfluß von Feuchtigkeit und Wärme durch Erweiterung der mütterlichen Vulva. Auch Baunacke gibt für den Rübennematoden an (S. 272), daß die Larven durch den englumigen Vulvakanal nach außen wandern. Diesen Weg brauchen sie nach eigenen Beobachtungen am Hafernematoden jedoch nicht immer zu nehmen. Mehrere Fälle wurden festgestellt, bei denen sie auch aus dem Halsteil der Zyste nach außen drangen. Dies läßt darauf schließen, daß für den Schlüpfakt diejenigen Stellen bevorzugt werden, die den geringsten Widerstand bieten. Der Schlüpfakt selbst kann eine bis mehrere Minuten dauern.

Nach Beobachtungen von Wålsted wandern die jungen Larven an der Wurzelspitze des Getreides unmittelbar über der Wurzelhaube ein. Die weitaus größte Zahl der untersuchten Larven, nämlich 98,4%, war mit dem Kopf in der Wachstumsrichtung der Wurzel orientiert. Die einmal eingenommene Lage behalten die Larven während ihres ganzen Lebens bei. Da aber die Pflanze weiterwächst, liegen die zuerst im unteren Teil der Wurzel eingedrungenen Tiere schon bald im mittleren Wurzelabschnitt. So zeigte ein Versuch, daß von 530 Larven, die 18 Tage nach dem Auslegen von Haferkörnern in verseuchte Erde auf ihre Lage hin untersucht wurden, nur noch

45% nahe der Spitze (d. h. bis zu 3 cm von der Wurzelspitze entfernt) lagen, während sich bereits 55% im höheren Teil des Wurzelabschnittes befanden. Um bei vergleichenden Untersuchungen über die Anfälligkeit von Sorten zu einem einwandfreien Ergebnis zu kommen, genügt es daher, wenn nur bestimmte Stücke des zu prüfenden Wurzelmaterials entnommen werden. Wålsted schlägt vor, eine gewisse Strecke von der Wurzelspitze an aufwärts zur Zeit der stärksten Larveneinwanderung zu untersuchen. Schneller gewinnt man freilich einen Überblick über den Grad der Anfälligkeit, wenn man die Sorten ein paar Wochen später nach ihrem Zystenbesatz bonitiert.

3. Wenn auch anscheinend noch Maiorformen in Getreidewurzeln einwandern können, so ist es doch denkbar, daß von diesen nur ein Teil die Fähigkeit der Weiterentwicklung und Fortpflanzung hat, zumal nach Untersuchungen von Wålsted bei den hochresistenten Chevalier-Gerstensorten trotz des Larvenangriffs keine Zysten sich bilden. Verfolgt man die Entwicklung der Nematoden nach ihrer Einwanderung, so beobachtet man bei Roggen von Woche zu Woche einen Rückgang. Manche Larven erreichen nicht einmal die Flaschenform, andere entwickeln sich zunächst normal, bleiben aber auf dem letzten flaschenförmigen Stadium stehen und sterben ab. Ein Versuch möge dies zeigen: Am 12. 4. 1937 wurden drei mit Nematodenerde von gleichem Verseuchungsgrad gefüllte Töpfe mit Roggen gleichmäßig besät und 2 Pflanzen je Topf in verschiedenen Zeitabständen entnommen. Bei der mikroskopischen Untersuchung ergab sich im Durchschnitt folgender Befall je Pflanze:

1. Probeentnahme (23. 4.): 21 Larven,
2. Probeentnahme (3. 5.): 7 Larven,
3. Probeentnahme (10. 5.): 3 Larven (Flaschenform),
4. Probeentnahme (18. 5.): 2 Larven (Flaschenform),
5. Probeentnahme (27. 5.): 4 Larven (Flaschenform),
6. Probeentnahme (9. 6.): 2 Zysten.

Eine Wiederholung des Versuchs im Jahre 1938 führte zu gleichem Ergebnis. Auch an den Wurzeln von Hafer konnte ein allerdings geringerer Rückgang im Befall während der Entwicklung beobachtet werden. Es scheint hiernach, als ob die von Nematoden befallenen Pflanzen zur Bildung von Abwehrstoffen veranlaßt werden, die ihrerseits die Weiterentwicklung einer mehr oder weniger großen Zahl Nematoden verhindern.

4. Der unterschiedliche Befall innerhalb der einzelnen Getreidearten ließ den Gedanken aufkommen, ob hier vielleicht Unterschiede im Entwicklungsrhythmus des Hafernematoden vorhanden sind. Sät man zum Frühjahr in Erde von gleichem Verseuchungsgrad Hafer, S. Weizen, S. Gerste und S. Roggen aus und untersucht in gleichen Zeitabständen den Entwicklungszustand des Hafernematoden, so kann man feststellen, daß über einen längeren Zeitraum Larven in die Wurzeln einwandern. Während die zuerst eingedrungenen Tiere bereits das Flaschenstadium erreicht haben, sind andere über das erste Larvenstadium noch nicht hinaus. Man findet die verschiedenen Entwicklungsformen in den Wurzeln aller Getreidearten an. Auch die Zystenbildung tritt, wenn auch zahlenmäßig sehr unterschiedlich, zur gleichen Zeit ein. Irgendwelche Unterschiede in der Entwicklungsgeschwindigkeit waren somit nicht zu ermitteln.

Es fragt sich nun, ob durch eine Abänderung der normalen Lebensbedingungen ein Einfluß auf die Entwicklungsgeschwindigkeit und damit auch auf die Zahl der Generationen erzielt werden kann. Nach Untersuchungen von Schmidt, Wålsted und Goffart bildet der Hafer-

nematode jährlich nur eine Generation aus. Nun findet man aber im Herbst in den Wurzeln von Ausfallkorn oftmals eine Anzahl Larven. Diese stammen zum weitaus größten Teil aus Zysten, die bereits im Vorjahr sich gebildet haben oder noch älter sind. Sie entwickeln sich, wie früher gezeigt wurde (3), im Laufe des Herbstes höchstens bis zur Flaschenform. Auf diesem Stadium bleiben sie bis zum Beginn des Frühjahrs stehen. Erst dann setzt die Weiterentwicklung ein, die zur normalen Zeit zur Zystenbildung führt. Werden die Versuche aber im Gewächshaus angestellt, kommt es zu keinem Stillstand in der Entwicklung. Bei der Entnahme von Haferpflanzen am 24. 1. 1938 wurden z. B. je Pflanze durchschnittlich 18 Zysten gezählt. Diese hatten nur etwa zwei Drittel der natürlichen Größe. Ihr Mittelwert wurde mit $34{,}7\,\tau \pm 0{,}618$ ermittelt, wobei $\tau = 19\,\mu$ ist. Etwa 700 dieser Zysten kamen in sterilisierte Erde. Bei einer im September vorgenommenen Untersuchung konnten aber nur 65 Zysten wiedergefunden werden, von denen 7 einige gesunde Larven enthielten. Der Inhalt der übrigen Zysten war entweder zugrunde gegangen oder bestand neben verpilzten Eiern nur noch aus einer grobkörnigen Masse. In kurz vorher ausgesäten Hafer waren vereinzelt auch einige Larven eingewandert.

Es interessiert natürlich auch die Frage, welches Verhalten demgegenüber die Brut aus neugebildeten Zysten zeigt. Sät man z. B. im September in Boden, der nur Zysten der letzten „Ernte" enthält, Hafer aus und hält die Töpfe unter günstigen Bedingungen (Gewächshaus), so können im Oktober vereinzelt Larven in den Wurzeln angetroffen werden (vgl. auch Abb. 1). Eine Zystenbildung ist aber selbst unter optimalen Lebensbedingungen (ausreichende Wärme und Feuchtigkeit) während des Winters nicht beobachtet worden. Sie trat in den Versuchen erst im Juni auf. Wir können hieraus entnehmen, daß die Brut in den neugebildeten Zysten unter allen Umständen eine Reifezeit von 9 Monaten notwendig hat. Etwa vorzeitig schlüpfende Larven entwickeln sich entsprechend langsamer und kommen anscheinend auch erst im Juni zur Zystenreife. Larven aus älteren Zysten, welche überliegen, sind dagegen imstande, unter Gewächshausverhältnissen die parasitäre Lebensphase abzukürzen und schon 5 Monate eher als unter normalen Verhältnissen zur Zystenreife zu gelangen, doch scheint die Frühreife z. T. auf Kosten der Nachkommenschaft zu gehen.

5. Aus den vorerwähnten Versuchen lassen sich auch Rückschlüsse auf die jahreszeitlich verschiedene Aktivität des Fadenwurms ziehen. Bekanntlich befällt der Nematode den Hafer hauptsächlich in den Monaten März bis Ende Mai. Dann aber tritt eine plötzliche starke Abnahme im Schlüpfprozeß ein, die praktisch bis zum Januar des nächsten Jahres anhält. Auch während der Zeit, in der das Ausfallkorn aufläuft, wandern stets nur sehr wenig Larven ein, wie u. a. die oben beschriebenen Versuche lehren. Diese zuerst von Schmidt in Form einer Jahreskurve niedergelegte Beobachtung ist später mehrfach bestätigt worden. Unklar blieben aber die Faktoren, die den Schlüpfprozeß auslösen. Sie scheinen nach dem Vorhergesagten in dem aufgezeichneten Entwicklungsrhythmus zu liegen, der normalerweise 9 Monate dauert. Bei genügender Erwärmung des Bodens schlüpft darauf ein Teil der Larven aus den Zysten, und zwar ohne Rücksicht darauf, ob eine Wirtspflanze vorhanden ist oder nicht. Ist sie vorhanden, wandern die Larven in die Wurzeln ein, fehlt sie aber, dann müssen sie entweder zugrunde gehen oder im Hungerzustand bis zur nächsten Vegetationsperiode überdauern. Wie Versuche zeigten, können aber einzelne Larven ohne Wirtspflanze wenigstens 6 Monate lang im Boden leben. Ein anderer Teil der

schlüpfreifen Larven bleibt in den Dauerkörpern zurück. Wie lange dieses Überliegen anhalten kann und welche Ursachen hierfür in Frage kommen, ist unbekannt. Nur aus den Untersuchungen von Fuchs über den Rübennematoden weiß man, daß in unbebautem und völlig unkrautfrei gehaltenem Boden noch nach 5 Jahren Zysten mit Eiern gefunden worden sind. Fuchs nimmt an, daß wenigstens ein Zeitraum von 8 Jahren verstreichen muß, bis die Zysten völlig entleert sind.

Die vorstehenden Ausführungen hatten den Zweck, auf einige besondere Eigenschaften des Hafernematoden aufmerksam zu machen. Zum Teil konnten bereits in vergleichenden Versuchen mit dem Rübennematoden Abweichungen festgestellt werden. Es wird sich zweifellos lohnen, auch den Kartoffel- und Erbsennematoden in den Kreis der Untersuchungen einzubeziehen, weil diese eine noch größere Spezialisierung als der Hafernematode aufweisen. Vielleicht ist es möglich, durch eine eingehende Gegenüberstellung dieser 4 Formen, die von manchen Autoren bereits als selbständige Arten angesehen werden, neben Parallelem manch Abweichendes und Gegensätzliches zu ermitteln, was geeignet ist, die verwandtschaftlichen Beziehungen der verschiedenen Formen noch besser zu beleuchten, als dies bisher schon möglich war.

Zusammenfassung.

1. Kümmerformen treten beim Hafernematoden bereits in der Frühzeit der Entwicklung auf. Sie sind als solche nicht immer kenntlich und können auch noch aus den Zysten schlüpfen. Die Beobachtungen bestätigen die Angaben Schmidts, daß nur Maior-Formen imstande sind, in die Getreidewurzeln einzuwandern.

2. Das Ausschlüpfen der jungen Larven aus den Zysten erfolgt an der Stelle, die den geringsten Widerstand bietet.

3. Nur ein Teil der eingewanderten Larven kommt zur Weiterentwicklung und Fortpflanzung.

4. Unterschiede im Entwicklungsrhythmus des Hafernematoden innerhalb der verschiedenen Wirtspflanzen wurden nicht festgestellt.

5. Für die Larvenreife ist eine Zeit von 9 Monaten erforderlich. Das Ausschlüpfen erfolgt dann bei genügender Erwärmung des Bodens. Dringen vorher schon Larven in die Wirtspflanze ein, so macht sich eine Verkürzung der parasitären Lebensphase nicht geltend. Nur Larven aus älteren Zysten können im Gewächshaus zu früherer Reife gelangen, doch scheint diese z. T. auf Kosten der Nachkommenschaft zu erfolgen.

6. Im Hungerzustand können einzelne Larven mindestens 6 Monate im Boden verbleiben.

Schriftenverzeichnis.

1. Baunacke, W., Untersuchungen zur Biologie und Bekämpfung des Rübennematoden Heterodera schachtii Schmidt. (Arb. a. d. Biol. Reichsanst. Bd. 11. 1923. S. 185—286.) — 2. Fuchs, O., Beiträge zur Biologie des Rübennematoden Heterodera schachtii. (Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Österreich. Bd. 14. 1911. S. 923—949.) — 3. Goffart, H., Untersuchungen am Hafernematoden Heterodera schachtii Schmidt unter besonderer Berücksichtigung der schleswig-holsteinischen Verhältnisse. I. (Arb. a. d. Biol. Reichsanst. Bd. 20. 1933. S. 1—26.) — 4. Schmidt, O., Sind Rüben- und Hafernematoden identisch? (Arch. f. Pflanzenbau. Bd. 3. 1930. S. 420—464.) — 5. Schmidt, O., Beiträge zur Rassenfrage bei Heterodera schachtii. (Arch. f. Pflanzenbau. Bd. 7. 1931. S. 147—168.) — 6. Wålsted, I., Verschiedene Rassen bei Heterodera schachtii Schmidt. (Der Züchter. Bd. 8. 1936. S. 201—208.) — 7. Wülker, G., Biologie der Tiere Deutschlands. Lief. 11: Nematodes. Berlin 1924.

Nachdruck verboten.

Studies in the Microbiology of the Caecum of the Horse.

[From the Private Laboratory of the authors. 14, Applegarth Road, Brook Green. London W 14.]

By **Frank Baker** and **Rollo Martin.**

With 3 plates.

Introduction.

In a number of former papers (5, 6, 7, 8) microorganisms indigenous to the guinea-pig and rabbit respectively have been described. Particular attention has been given to the features which attend the disintegration of cell-wall substances. The investigations have been primarily concerned with the direct microscopical observation of the changes taking place in situ. Thus, through the comparison of microchemical and histological changes with alterations in double-refraction, it has been possible to establish, with considerable precision, not only the nature and extent of the disintegration taking place, but also the characteristics of the microorganisms by which it is effected. In the course of the investigation the prevalence of an iodophile microflora and fauna has been remarked. The significance of this feature has been discussed in relation to the synthesis and degradation of carbohydrates in the caecum. These methods of investigation are in the present paper extended to the caecum of the horse. In the caecum of this animal, however, the presence and functional activity of protozoa is far more conspicuous than in either the guinea-pig or rabbit. For this reason it is desirable to determine in addition to

(1) The nature and extent of disintegration taking place.

(2) The characteristics of the microorganisms by which it is effected, and in this connection.

(3) Clearly to discriminate between the respective functional activities of bacteria and protozoa.

With elucidation of these problems by direct microscopical observation the first part of this paper is largely concerned. In a second part, the results obtained will be compared with those previously recorded and with some relevant observations of other investigators. Finally an attempt will be made provisionally to elucidate in terms of the field-concept the functional relationships and organisation of the caecum.

Technique.

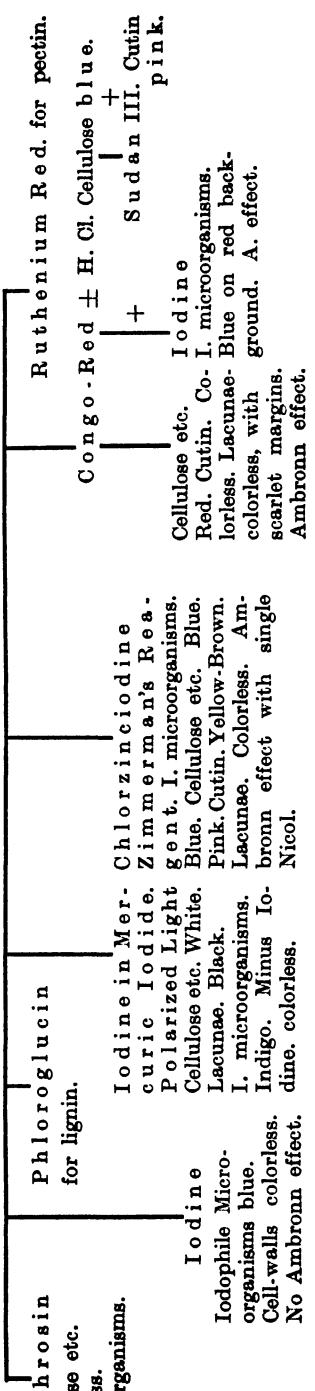
(1) Material.

Material was obtained from the caecum of two horses, a mare of 6—7 years and a gelding of 18 years. Samples which were taken immediately after death showed a faintly acid reaction to litmus. They were preserved in 10% formalin.

(2) Methods.

The polariscopic and microchemical methods employed have been described in previous papers. (7, 8) In the present instance Congo-Red was employed as a supplementary reagent to Chlorzinciodine in the detection of

cellulose. The relationship of these methods to the subject matter of the investigation is indicated in the accompanying diagram.



Observations upon the Disintegration of Cell-Wall Substances.

a) Disintegration of the Optically Birefringent Polysaccharides.

(1) General characteristics.

On examination of plant remains in iodine preparations it could be observed that iodophile microorganisms were harboured by and in many cases entirely penetrated the primary and secondary layers of the wall. The characteristics of these microorganisms will presently be described in detail. In the vicinity of such organisms well-defined zones of erosion were witnessed. The shape of the individual zones, termed fossae, could always be seen closely to correspond to the outlines of their respective and included microorganisms. By the fusion of several fossae larger eroded areas termed lacunae were seen to result.

(2) Polarised Light. Crossed Nicols (Plates I, a. b. 2, 6; Pl. II, 4, 5).

By examination under crossed nicols it could be observed that the double refraction of the intact structures ceased abruptly in the eroded areas.

(3) Microchemical Reactions. Zimmermans Reagent and Chlorzinciodine (Plate I, 4, 5 a, b; Pl. II, 3).

In preparations made with Zimmermans reagent or Chlorzinciodine, characteristic cellulose reactions could be observed in the epithelial cells, in parenchyma and in bast fibres. At the foci of disintegration iodophile microorganisms were simultaneously rendered prominent. In such regions it could always be observed. (1) That the reaction ceased entirely in the lacunae; its dissappearance corresponding precisely to their loss of double-refraction. (2) That it was intensified at their margins.

In other structures, such as sclerenchymatous fibres, guard cells and epidermal hairs, the cellulose reaction was initially absent, diminished or modified. In each case, however, the typical blue on bluemauve reaction

reappeared and was intensified at the margins of the lacunae. In these instances we were led to assume (1) that the typical cellulose reactions of the double-refracting substratum had in the intact tissue been modified or obscured by impregnation with secondary constituents. (2) That by extraction of these substances the cellulose substratum, itself ultimately destroyed, was temporarily laid bare at the marginal regions of the lacunae. Evidence was obtained that gave conclusive support to this interpretation.

(4) Staining Reactions. Congo Red (Plate 1, 3 a, b; Pl. II, 1 a, b).

The specificity of Congo Red and similar tetrazonium compounds for unmordanted cellulose is well-known and has been emphasised by Mangin (34), Knagg (31), Mehta (34) and Wood (51). By staining with such dyes it is therefore possible additionally to control the results obtained with iodine reagents. Where the iodine reaction was absent or modified the staining reaction was similarly diminished or arrested. Similarly, at the margins of the lacunae, a local intensification of the staining was exhibited. By the addition of iodine and mounting in calcium chloride or potassium acetate, the iodophile microorganisms were demonstrated.

(5) Observation of stained preparations in polarised light. Dichroic intensification with a single nicol. The Ambronn effect (Plate II, 2 a, b).

By examination of preparations made with Congo Red, Chlorzinciodine or Zimmermans reagent, under a single nicol, the presence of a micellar organisation of the substratum could be established, after the manner of Ambronn, by the demonstration of maxima and minima of dichroic intensification. (2) These maxima and minima were observed whenever a cellulose reaction was obtained with any one of the above reagents. It is thereby clearly established that the reactions are directly due to the presence of the optically birefringent polysaccharides.

b) Phases in the Disintegration of the Optically Birefringent Substances.

(1) Perilacunar intensification.

Not only was an Ambronn effect demonstrable in the intact walls of the aforesaid structures but it persisted in the stained margins of the lacunae. Thus, when examined with the highest power of the microscope, a lacuna double stained with Congo-Red and Iodine exhibits, in the interior of each fossa, a blue coloured iodophile microorganism, immediately surrounding which is a clear space sharply circumscribed by a brilliant scarlet border. In the clear zone an entire disintegration of the optically birefringent polysaccharides has taken place. At the border, however, whilst the intensified staining bears witness to the occurrence of some chemical or physical change, the persistance of the Ambronn effect simultaneously indicates that the micellar organisation has not appreciably been disturbed. A feature which confirmed this conclusion was the fact that the angle of maximum intensification at the margin was identical for all lacunae lying in a single plane.

(2) Relation of the distribution of organisms to the structural configuration of the wall.

In certain instances it was easy to observe that the distribution of microorganisms and the orientation of the lacunae tended quite markedly to conform to the major structural configurations of the parts affected. This con-

formance was so much the more in evidence as that confirguation was pronounced. It was therefore more apparent in prosenchymatous than in parenchymatous structures.

c) Influence of Intermicellar Components on the Disintegration of the Optically Birefringent substratum.

(1) Hemicelluloses.

By the intermicellar disposition of secondary components, the properties of the optically birefringent substratum may be more or less profoundly modified. In consequence of these modifications, the cytoclastic process may be accelerated or retarded. So, also, the microchemical and staining reactions of the structures may be altered or obscured. Thus, in the present investigation, it could be observed that, in safranin preparations, the tips of epidermal hairs, which were stained blue with Chlorzinciodine, red with Congo and exhibited strong double-refraction, remained entirely colourless. The thickened secondary lamellae of these structures, which were also birefringent, appeared yellow with Chlorzinciodine and brown with Zimmerman's reagent were, on the contrary, uncoloured by Congo-Red but stained a pink-red with Safranin. With Ruthenium Red such hairs appeared uncoloured. Their reaction to Phloroglucin was uniformly negative. Neither the lignin nor pectin, therefore, are responsible for the reactions of the secondary layer. In view meanwhile of the fact that the entire hair is birefringent the presence of an organised polysaccharide substratum is clearly established. It is, therefore, legitimate to conclude that whereas, at the tip to the hair, this substratum is composed almost exclusively of cellulose, in the secondary layer an impregnation with hemicellulose has taken place, to which the alteration in microchemical and staining reactions are due. This assumption is entirely confirmed by the features which attend disintegration. The attack could be observed to proceed indifferently from the tip or the base, from the lumen towards the exterior or from the exterior toward the lumen. The entire substratum of optically birefringent polysaccharides is therefore accessible to disintegration. In the secondary lamellae however the original reaction to Congo Red and Chlorzinciodine reappeared at the margins of the lacune. Thus in the cytoclastic process both the cellulose and hemicellulose components of the wall are simultaneously embraced.

(2) Resistance of Cutin to Disintegration.

In any preparation examined at random large fragments of detached cuticle could always be observed in which the presence of cutin was demonstrable with Scharlach. R. or Sudan III. These fragments were often torn, but the features, such as lacunation, which elsewhere attend the disintegration of cellwall substances were entirely absent. This immunity to attack was especially prominent when cuticularised and uncuticularised regions of the same structure were juxtaposed. From these and other observations of a similar kind, a complete resistance of cutin to the cytoclastic process may be inferred.

Influence of other intermicellar components.

(3) Lignin.

The influence of lignin upon the course of disintegration is not so easy certainly to ascertain as that of cutin. As in the guinea-pig (6, 8) and rab-

bit (7) a total destruction of the less mature sclerenchymatous structures, which may include, in addition to tracheides, small spiral and scalariform vessels, was often observed. We may provisionally infer that the accessibility of sclerenchymatous elements to attack devolves upon the balance and distribution of their lignin and hemicellulose constituents; the first of which increases whilst the second diminishes the resistance to the cytoclastic process.

(4) Pectin. The phase of dissociation.

In preparations made up with Ruthenium Red pectic substances could readily be demonstrated by their staining reactions in a large number of structures. Though absent, for example, from epidermal hairs and from guard cells they were appreciably present in association with the birefringent polysaccharides of the epidermal wall. The entire disintegration of the non-cuticularised portions of these walls indicates that the impregnation of their cellulose and hemicellulose components by substances of a pectic character does not effectively retard and may actually accelerate the cytoclastic process.

It is, however, in the substances of the middle lamella that pectolysis is most clearly in evidence. Thus, in preparations that had been irrigated with Schweizer's reagent, the Ruthenium red was extracted from its association with the birefringent polysaccharides, which were stained a light blue and swollen, but was retained by the middle lamellae, which were coloured a deep red-violet. Under these circumstances it could be observed that whereas, in intact structures, the deeply stained pectic substancse formed an uninterrupted margin to the surfaces of contiguous cells, in structures that were in process of disintegration, the continuity of this margin was broken by unstained intervals of various lengths. It was clear that in such regions an entire pectolysis had taken place and that, by changes of this kind, a dissociation of structures could be effected. Further observations, however, disclosed the operation of factors and the presence of substances by which the process of pectolysis could be to a greater or less degree inhibited. Thus, in the case of epidermal cells, it is known that between the cuticle and the wall a layer of pectin is interposed; to the entire dissolution of which the detachment of large strips of cutinised membrane may be attributed. But this cutinisation may vary in degree and penetration according to the age and character of the structures affected. Thus, in epidermal cells, in regions where an extensive disintegration of the optically birefringent polysaccharides was already in progress, the middle lamella appeared in some instances to remain intact. In these cases, however, it was always possible, by staining with Scharlach or Sudan III, to demonstrate the presence of cutin.

Characteristics of the Microorganisms concerned in the Disintegration of the Cell-Wall Substances.

It has already been remarked that the disintegration of optically birefringent polysaccharides, as evidenced by the formation of lacunae, is effected by the activities of microorganisms exercised in situ. Very similar microorganisms had previously been described in connection with the cytoclastic processes taking place in the caecum of the rabbit and guinea-pig respectively. In the case of the guinea-pig it had been ascertained that every transition could be witnessed between very small micrococci of diam. 0,1 to 0.2 μ and large "macrococci" of diam. 0.9 to 1.8 μ (11). Exactly similar

transitions have been observed in the microorganisms of the horse. As in the guinea-pig, coccoids of all dimensions were witnessed in the form of chains, which included a variable number of individuals and were usually curved. So also the close relation between the curvature of the chains and the major configurations of the lacunae was established.

In the interior of the coccoids a heavy deposit of a substance resembling amylodextrin and giving a blue-mauve reaction with iodine was almost always present. In aqueous preparations they were strongly stained by Erythrosin but almost uncoloured by Eosin. Again, though well stained with Methylene and Anilin Blue, respectively, they were only faintly stained by Acetic Iodine Green. The presence of a capsule was demonstrable. It was uncoloured by either Chlorzinciodine, Zimmerman's reagent or Congo Red. Under crossed nicols no appreciable double refraction could be detected. The presence of cellulose may therefore be excluded. On the other hand, it was stained with Ruthenium red, the contents of the coccoids remaining almost colourless. Similar results were obtained with Safranin and, with Bismarck Brown. On these grounds the presence of pectic substances may be surmised. It will be recalled that substances of this kind have been demonstrated by Simons with trichomes of Oscillospira Guillermondi (guineapig, V. 11). By irrigation with dilute Giemsa's solution the organisms are strongly coloured and their capsules rendered prominent. They were not acid fast and reacted negatively to Grams stain.

Vibrionic Forms.

In the vibrionic forms the iodine reaction is generally far less pronounced than in the coccoids. Individual vibrios were sinuous, sometimes S or comma shaped, with tapering, sometimes rounded, sometimes pointed ends. The presence of a capsule could not be demonstrated. The microorganisms were gram negative. Although they could be stained in erythrosin the staining was not intense with any of the anilin dyes employed. No volutin was demonstrable with polychrome blue. Fat was not detected with Sudan III.

Relation of the Coccoid to the Vibrionic Forms.

Since organisms of both the foregoing types are constantly associated with the disintegration of cell-wall substances in the caecum of the horse, rabbit and guinea-pig, respectively, it must be assumed either

(a) That in the cytoclastic process the activities of a number of independant species are throughout simultaneously involved or

(b) That the vibrionic and coccoid forms constitute stages in the life cycle of some polyphasic organism.

Evidence which appeared to weigh in favour of the second conclusion had previously been advanced in an early paper on the caecum of the guinea-pig. The observation, recorded in a later paper, of a continuous series of coccoids and coccoid chains of all dimensions tends clearly to support this view. In the course of the present investigation the existence of what appeared to be intermediate stages between the vibrionic and coccoid forms was also established. Thus, in the vibrios, chains comprising numerous individuals could often be observed, by whose association spirilloid and other configurations resulted. The curvature of the larger of these chains was similar in contour to that of the chains of cocci previously described.

Within the vibrios, moreover, one or more sharply defined iodophile granules could generally be observed. In the locality of the larger granules the organisms were swollen. Thus transitions were witnessed between vibrios, and vibrionic filaments with localised iodophile swellings, and chains of coccoids properly so-called. So also, in one and the same filament, unswollen vibrionic and swollen coccoid forms have simultaneously been observed. On the basis of these observations, and in view of the intrinsic difficulties that attend the adoption of the sole alternative interpretation advanced, the observed disintegration of birefringent polysaccharides may provisionally be referred to the activities of a single genus of polyphasic organisms species of which are indigenous to the caecum of the herbivorous animals so far investigated.

Free-living Microorganisms.

In addition to the protozoa and to the cytoclastic species proper, a considerable variety of microorganisms are commonly found free living in the fluids or loosely associated with the plant residues of the caecum.

Schizomycetes.

Many of the smaller free living schizomycetes, such as isolated vibrios micrococci, coliform organisms, etc. are not identifiable as species by simple inspection. Attention, therefore, is directed towards morphologically recognisable types, and in any other case to features of general functional significance, such as behaviour to Gram's stain, reaction with iodine etc.

Streptococci.

The true streptococci were distinguishable from the other coccoid microorganisms present by giving a strong positive reaction with Gram's stain. The former observed were of the brevis type, aniodophile, and staining strongly with methylene blue.

Sarcina.

Sarcinae were regularly encountered in considerable numbers. They were Gram, but did not resist differentiation so long e. g. as the streptococci. In some cases a deep blue reaction with iodine was observed; the iodophile substance being located in the interior of the individual units. In other cases, they were stained yellow or remained colourless.

Bacteria and Bacilli.

Bacteria (sic. sporeless rods) were present often in great numbers but could not be identified by morphological criteria. Only a small proportion of the unidentified species were iodophile. Spore forming bacilli were also present but in remarkably small numbers.

Spirillaceae.

(1) Giant Spirillum (Plate III. 8).

Giant spirilla of an easily recognisable form were present in great numbers. They stained well with Giemsa, Erythrosin, Fuchsin, Methylene and Polychrome blue. The number of convolutions was variable, S shaped forms predominated. The organisms were septate and had rounded ends. They were iodophile, showing a brownish-mauve reaction. The septa were strongly stained by anilin dyes, retaining the stain after differentiation by Gram's method, the remainder of the organism being decolorised. No

spores were observed. Neither fat, volutin nor pigment were demonstrable. The organisms were decolorised by acids after staining according to the Ziehl-Neelsen procedure. (Dimension of S shaped form tip to tip 40 μ. Thickeness 2 μ.)

(2) Coccoid phase of giant spirillum (Plate III. 9).

Forms similar in contours and dimensions to the above, but in which the interior of the organisms was subdivided into coccoids, were frequently observed. In an individual, for example, with three turns to the spiral, some 50 coccoids were counted. An iodine reaction was present, and the behaviour to stains was similar to that described in the previous instance. It would appear that these forms should provisionally be regarded as a phase in the life-history of the giant spirillum.

(3) Closely coiled spirillum (Plate III, 3).

The true taxonomic affinities of this curious organism, which was regularly encountered, remain uncertain. It was observed in the form of a filament of numerous tightly coiled spirals, bearing at a first glance some resemblance to a spiral vessel. It gave a brown-mauve reaction with iodine, was Gram negative and easily decolourised by acids. A formation of transverse septa was occasionally observed. By scission at the septal junctures, the entire filament was resolved, in certain instances, into crescentic or semilunar vibrios. Pending further investigation, the organism may be classified as a spirillum.

(4) Aniodophile spirillum (Plate II, 6).

This spirillum, which was uniformly present in the films examined, was easily distinguishable from any of the preceding species by its shape and staining reactions. The organism was thick in (1.6 μ) in relation to its length (11 μ) and usually possessed from 2—3 broad but shallow spirals (Amplitude 2.0 μ, Length 3.5 μ). It was stained more deeply with both Giemsa, polychrome blue, methylene blue and fuchsin than any of the spirilla already described. In fuchsin preparations, differentiated with anilin or clove oil, it retained the stain long after the majority of organisms present had become decolourised. It did not, however, resist decolorisation with mineral acids. An iodine reaction was entirely lacking. It was negative to Gram's stain.

Selenomonas.

A selenomonas species was observed similar to that indigenous to the caecum of the guinea-pig, and whose cytological characteristics have been described minutely by Boskamp (cv. 6).

Spirochaetes (Plate III, 7 a, b, c).

Spirochaetes were present in very great numbers. They could be observed to fall into groups corresponding approximately in morphological features with the plicatilis-stenostrepta, pallida, recurrentis-buccalis, and leptospira types. Of these, the first three "genera" were predominant. They were in every case aniodophile and Gram negative.

Fusobacteria.

Here, as in the caecum of the guinea-pig and in the human mouth, spirochaetes were closely associated with fusobacteria (6, 32). The latter

were recognisable by their wavy outlines, pointed ends, and by the presence of chromatic granules. They were Gram-ve and did not stain with iodine.

Unclassified Iodophile Microorganisms.

The taxonomic position of the following organisms which were conspicuous, severally or collectively, by reason of their form and staining reactions with iodine, remained very uncertain.

Organism A. Leptothrix?

Formed chains often of considerable length and segmented (2—300 μ). The segments were broad (1.8 μ), had square ends, and gave a bluish reaction with iodine, which was absent from the transverse septa. No spores were observed. Neither fat, volutin nor pigment were demonstrable. The organisms stained readily with ordinary stains, but were decolorised by Gram's method. They bore a resemblance to the Leptothrix buccalis maximus of the human mouth (38) which was also countenanced by their iodophile habit.

Organism B (Plate III, 4, 5).

The organisms were witnessed in the typical instance as filaments often of surprising length (800—900 μ) composed of broad coccoid-like segments (2—2.5 μ). The interior of the coccoids was filled with a dense deposit of iodophile substance giving a brown to mauve reaction. Exteriorly they were surrounded by a sheath which was aniodophile or stained a light yellow; in addition, it was unstained either by Chlorzinciodine or Congo-Red. As in other instances, the transverse septa, which stained deeply with anilin dyes, remained colourless in iodine. The organisms were Gram-ve. On further observation it was determined that, at least in many instances, the coccoids arose from the abrupt tumescence of the segments of an elongated and initially iodophile filament. The swelling could occur simultaneously in a number of contiguous segments, or else sporadically at widely spaced intervals. With the advance of tumescence, the deposit of iodophile substance became more dense, so that the intensity of the colour reaction was increased. Hypertrophied coccoids of exceptionals dimensions (3—3.5 μ) were thus observed occasionally to result.

Organism C (Plate III, 6).

Organisms that superficially resemble long chains of streptococci were amongst those invariably encountered in all the films examined. They could be distinguished with certainty from true streptococci by their negative reaction to Gram's stain; and from Organism B by their far smaller dimensions (breadth 1.5—1.8) and their colour reaction with iodine. The latter was of a slaty blue to deep indigo, in contradistinction to the brownish shades of the former. The intensity of the iodine reaction in the segments of one and the same filament was variable; some being replete with others almost devoid of iodophile substance. As in the preceding organism, an abrupt tumescence of individual segments to form hypertrophied coccoids was observed. In these localities the deposit of iodophile substance was augmented.

Organism D (Plate III, 2).

This very remarkable species was commonly encountered in groups surrounded by a diffuse mucilaginous envelope which gave a light blue colour

with iodine. The individual organisms were ellipsoidal, oval or clostridium-like in shape (Length 10—12 μ, max. breadth 3—4 μ). They showed an intense blue-mauve reaction with iodine, almost invariably lacking at one or other end but never at both simultaneously. The aniodophile region appeared in preparations treated with this reagent as a clear, saggitate, semilunar or crescentic zone with sharp margins. In preparations stained with anilin dyes, on the contrary, this region was intensely coloured. Similarly, it retained the stain after treatment by Gram's method, the remainder of the organism being decolorised. The organism sometimes formed chains of five to ten individuals, which appeared always to be united by their aniodophile poles.

The Indigenous Protozoa.

Reference has been made in the introduction to the presence of an indigenous protozoan microfauna. For the full enumeration of species and for further information regarding their taxonomic characteristics reference may be made to the papers of Fiorentini (21), Bundle (14) and Gassowsky (23). In the samples investigated the following were encountered.

Genus. Cycloposthium (Bundle), C. bipalmatum (Fiorentini emend. Bundle, Plate III, 1 a, b, c).

This organism, which was frequently encountered, was easily recognised on account both of its large size (200—350 μ) and characteristic form. The body is barrel shaped and is enclosed in a resistant cuticle. It is more curved on the right or dorsolateral than on the left or ventro-lateral side. Posteriorly, it terminates in a dome-shaped projection which, viewed laterally, declines abruptly on the right side and more gently on the left to join the body. The juncture forms on either side a ledge; from each of which ledges there projects, from a socket like insertion of the cuticle, a bundle of thick cilia. To these bundles the specific name refers. Anteriorly, the body exhibits, surrounding the crater-like mouth, a retractile cyclophore bearing a crown of very stout cilia. Internally, a differentiation into a dorsal and ventral region may be established. Beneath the dorsal surface, extending longitudinally, lies a slightly curved segmented skeletal rod, whose blunt handle-shaped anterior is thicker than its pointed posterior extremity. Close to the inner margin of this structure is situated a large, also elongated, pistol-shaped meganucleus. It is easily demonstrable with acetic Iodine Green. According to Bundle, contractile vacuoles can be observed in vivo. In the endoplasm, which is coarsely granular in the middle regions of the body, but may be almost clear in the dome-shaped posterior extremity, are distributed irregular refractive masses of the so-called paraglycogen of Butschli (18 a).

Functional Characteristics.

Ingested starch grains were often present in so great an abundance as almost totally to obscure the internal structures of the cell. They could be observed in all stages of digestion. In the majority of cases, moreover, it was possible to establish the presence, in the interior of the protozoon, in addition to the aforesaid starch grains, of numerous iodophile microorganisms. An ingestion of cell-wall structures could, on the contrary, rarely be established, either by staining with Congo Red or by observation in polarised light.

Genus. Paraisotricha (Fiorentini).

Paraisotricha Kolpoides.

Several species of the genus Paraisotricha have been recorded in the caecum of the horse of which kolpoides is at once the commonest and the easiest to identify. It was encountered rather less frequently than the other types recorded. The organism was round or oval in form and was entirely clothed in short evenly distributed cilia. It was surrounded by a thick cuticle which stained only slightly with iodine. A large oval megannucleus was demonstrable with Iodine Green. A buccal orifice and ciliated buccal groove were easily recognised. In the neighbourhood of the mouth lay a so-called concrement-vacuole.

Functional Characteristics.

The endoplasm of the organism was extremely granular and in consequence opaque, sufficiently so largely to obscure its contents. By treatment, however, with chloral iodine it could be rendered transparent. In this way, the presence of starch grains and iodophile microorganisms could be demonstrated. In no case were cellulose reactions demonstrable in the contents.

Genus. Blepharocorys (Bundle).

Species of the genus Blepharocorys, probably jubata and valvata, respectively (14) were universally present. The organisms were elongated or slipper shaped in form with three anterior and a single posterior group of cilia. One of the anterior bundles lined the well marked buccal groove. Antero-medially a compact oval meganucleus could be demonstrated with acetic iodine green.

Functional Characteristics.

The endoplasm was finely granular and stained a light yellow colour with iodine. Within is, however, darker stained masses, apparently of a glycogenic character, could frequently be observed. According, consequently, to the extent and distribution of these masses, the original reaction of the endoplasm might be modified to a greater or less degree. It is remarkable that, in contrast to the other protozoa described, an ingestion of starch grains was never witnessed in this species. Iodophile microorganisms, on the contrary, could ordinarily be identified within the endoplasm and were often present in large numbers.

Genus. Didesmis (Fiorentini). (Plate II, 9.)

The genus Didesmis was represented in considerable numbers in the material investigated. Anteriorly the organisms are characterised by a large oval crater-like mouth, surrounding the margin of which is a closely-packed ring of slender elongated cilia. Posteriorly the organism exhibits a sharply defined anal slit, opening to the exterior by an orifice the tips of which are curved and swollen. On either side of the slit are situated a postero-lateral bunch of cilia. With acetic iodine green a large oval meganucleus could be demonstrated at or near the centre of the organism. To one side of the nucleus, a vacuole containing highly refractive concretions was observed. Of the species described by Bundle and Fiorentini, quadrata and ovalis were identified. Forms in process of division were often observed.

Functional Characteristics.

In Didesmis small starch grains in various stages of digestion were frequently observed, together with very numerous iodophile microorganisms.

Neither with Congo-Red nor with polarised light was it possible to detect the presence of cellulose.

Genus. Blepharoconus? (Gassowsky). (Plate II, 8. 10.)

Species provisionally identified as belonging to the genus Blepharoconus were amongst those most frequently encountered. The form of the organisms was oval, tapering anteriorly to a cone-shaped neck. The variable length of this truncated cone, at the apex of which a mouth can be observed, suggests that it is contractile, conforming in this respect to one of the generic criteria of Gassowsky. Surrounding the neck was a dense mass of cilia. The organisms were enclosed in a clearly demarcated and highly refractive cuticle which stained a bright yellow with iodine, but which was unstained by Congo Red, Chlorzinciodine or Ruthenium Red. Posteriorly and medially, a single bundle of cilia were observed. The form of the organism, reaction of the cuticle, shape of the mouth and position of the cilia, enabled organisms of this genus readily to be distinguished from the genera Bundleia and Didesmis. Forms in process of division were frequently encountered.

Functional Characteristics.

The endoplasm of Blepharoconus was more pellucid than that of any other organism encountered in the caecum; so that the starch grains with which it was often entirely replete could be observed with exceptional clarity. It was noticeable that the size of these grains often appeared, in fixed material, considerably to exceed the dimensions of the buccal orifice. This fact suggests that, in this genus, unlike the genera Didesmis and Cycloposthium where the food is passively driven into the crater-like mouth by the action of cilia, nourishment is actively sought for and ingested. The inclusion of cellwall structures was not observed; nor was the presence of cellulose demonstrated, either with polarised light or with microchemical reagents.

General Observations on the Functional Characteristics of the Protozoa.

The constant presence of an indigenous protozoan microflora in the caecum of the horse and the structural adaptation, for example, of the cilia and mouth parts in such genera as Didesmis, Cycloposthium, Blepharoconus and Paraisotrichia, indicates clearly enough the establishment of some functional relationship. The observations recorded also establish the presence in these organisms of an active carbohydrate metabolism to which the ingestion and digestion of starch grains simultaneously bears witness. The accumulation of paraglycogen in all the species encountered points unequivocally to the same conclusion. These observations, it may be noticed, are in agreement with those of Trier (48) on the Ophryscolecidae of ruminants. With regard, however, to the disintegration of cell-wall substances in general, and of cellulose in particular, the results of the present investigation permit only a negative conclusion provisionally to be drawn. The absence, in the species observed, of cell-wall structures would appear to demonstrate a failure not only to assimilate but even to ingest these substances. This failure we may attribute to several limiting factors, one of which may be a conjectural distaste of the organisms in question for particles of this kind. Another less conjectural and more stringent factor may be the disparity in dimensions of the cell-wall fragments present and those of the microorganisms themselves. As the result of the present and in the absence of further obser-

vations, therefore, we must attribute the preliminary role in the disintegration of cell-wall substances to the action of an iodophile microflora exercised in situ. It is true, meanwhile, that in consequence of the progressive demolition of the structures attacked, particles of diminishing size are excised; the smaller of which are in principle if not in fact susceptible of ingestion by the protozoa. But the composition of such fragments has been demonstrably and profoundly altered by the cytoclastic processes to which they have been subjected; so that a digestion of their intact constituents is at least questionable.

This is far from asserting, however, that the activities of the iodophile microorganisms and the protozoa proceed in every respect independantly. On the contrary the ingestion of the former by the latter, in addition to starch grains, suggests the establishment of some functional relationship between them.

Discussion.

In the discussion which follows an attempt will be made provisionally to interpret the data of the present investigation.

Comparative Section.

a) The nature of the cytoclastic process in the horse, guinea-pig and rabbit.

The observations recorded reveal the essential similarity of the cytoclastic process taking place in the horse with that previously demonstrated in the caecum of the guinea-pig (4, 5, 8) and rabbit respectively (7). This resemblance extends at one and the same time to the changes produced in the substrate and to the microorganisms by which they are effected. In each instance the process is associated with the presence of iodophile vibrios and cocci and with the formation of lacunae upon the optically birefringent structures. Evidence has already been presented which appears to indicate that the forms which predominate are stages in the life-cycle of some polyphasic organism. Again, in addition to the formation of lacunae, there is a remarkable uniformity in the secondary features that attend the disintegration of cell-wall structures. These features we have attempted in a recent paper directly to relate to the gross and fine structural constitution of the plant skeleton (8), a thesis which the present observations tend entirely to confirm.

b) Comparison with the observations of Cleveland upon the gut of the termite and roach.

The observations of Cleveland have clearly established the cytoclastic function of the Hypermastigotes indigenous to the termite (16) and roach (17) respectively. In the horse, also, a characteristic protozoan microfauna is present. Evidence however has been brought forward which appears to show that the protozoa are not immediately concerned with the disintegration of cellwall substances in the caecum; so that no direct analogy here obtains.

c) Comparison with the observations of Wiedemann on the larvae of lamellicorns.

In the gut of lamellicorn larvae Wiedemann (50) (C. V. 52) has demonstrated the presence of bacteria and protozoa. The bacteria are pre-

sent upon and occasion a distintegration of cell-wall substances. Lacunae are formed which resemble those described in the present instance. The indigenous protozoa are flagellates of the genera Monocercomonas, Bodo and Polymastix. In the stomach proteoclastic enzymes are secreted; but remain inactive owing to the alkaline reaction of the medium. In due course the bacteria are ingested by the flagellates. But in the lower regions of the gut the reaction of the medium becomes acid and the proteoclastic enzymes are activated. Thus, in the hind part of the proctodaeum all the micro-organisms are digested the bacteria having fed on the wood and the flagellates on the bacteria. These observations demonstrate that, even when the protozoa do not themselves occasion a disintegration of cell-wall substances, they may still contribute to the effective organisation of the cytoclastic process. It is clearly possible therefore that a type of relationship may prevail in the caecum of the horse comparable to that described by Wiedemann in the larvae of lamellicorns.

d) Comparison of the Cytoclastic process in Ruminant and non-Ruminant Herbivora.

In the paunch of ruminants both protozoa and bacteria are present. The extraordinary numbers of the former has also been remarked by several observers; reaching a figure in the sheep, according to the estimate of Ferber (19, 20, 35) of not less than 10^6 per cc.

These data have naturally sustained an interest in regard to the functional status of the microorganisms. Thus, from an early period, the ingestion of vegetable fragments has been described. The digestion of starch, glycogen, glucose and lactose is definitely established (48). By some observers a digestion of cellulose has also been claimed (C. V. 39); a point upon which, as already stated, great diversity of opininon still prevails (C. V. 39). Comparisons have been made with the hypermastigotes of termites. But it is significant that, whereas Ophryoscolecidae and other species can digest starch, an amyloclastic function is entirely lacking in the protozoa of termites and roaches. Indeed, according to Cleveland (17), the presence of starch is actually inimical to their existence. Thus, it is clear that the metabolism of the protozoa indigenous to termites differs in important respects from that of the species indigenous both to ruminant and non-ruminant herbivora; and that, in the absence of further information grounds for a direct comparison are lacking.

In the paunch, the indigenous protozoa encounter the food of their host before whereas in the caecum they encounter it after both gastric and pancreatic digestion. The available nourishment, in the first case therefore, includes undigested green stuff which, in the second, may be altogether lacking. This factor can scarcely fail to influence the metabolism of the respective microorganisms. Considerations of this kind discourage too summary an identification of the roles of the indigenous protozoa in the respective instances. For the same reason, it is difficult to assign to the microfauna of the caecum the primary importance as a source of nitrogen to their host which Carl Schwarz (45) has attributed to the protozoa of the paunch; since, whereas in the former region of the alimentary canal proteolysis in complete, in the latter it has yet to be accomplished. Proteoclastic enzymes, moreover, are known to be absent from the caecum and large intestine. (46)

Bacteria and Fungi.

In view of these facts, and of the proved absence of an autogenous cellulase in the paunch (37, 44) the disintegration of cellulose must, it would appear, be attributed to the activities of schizomycetes or fungi. Indeed a prominent role has successively been attributed to a great variety of micro-organisms some of which have since been isolated in pure culture. But it is clear that, in the absence of further control, the results obtained in vitro afford no more than a limited insight upon the factors operative in vivo; and that, as Pochon (39) has remarked, "les conditions de l'isolement donnent à ces essais des valeurs très différentes".

e) Comparison with the observations of Von Reichenow on the large intestine of frugivorous apes.

Entodiniomorpha have been observed by Reichenow (40) in the large intestine of the gorilla and by Brumpt and Joyeux (13) in the chimpanzee. The genus Troglodytella to which they pertain presents features in some respects intermediate between those of the Ophryoscolecidae of ruminant and the Cycloposthidae of non-ruminant herbivora.

The attempt to attribute a cytoclastic function to the protozoa of apes is open to reservations identical with those considered in the previous section.

f) Comparison of the total microfauna and flora in the guinea-pig, rabbit and horse.

(1) The iodophile microorganisms.

In addition to (a) the close similarity of the features which attend the cytoclastic process and the resemblance of between the microorganisms by which it is effected, we have noted. (b) The uniform presence in the caecum of the horse, guinea-pig and rabbit, of an abundant iodophile microflora. A rich iodophile microflora is also present in the caecum of the squirrel and, under certain conditions, in the caecum of rats and mice. In each case, the iodine reaction is manifested in a number of diverse species some of which may be entirely indigenous to their respective hosts. At this point, it remains to note that the number of iodophile microorganisms present, which ascends to a maximum in the caecum, progressively diminishes in the colon, and sinks to a minimum in the rectum. Thus, according to (unpublished) observations on mice, whereas iodine reacting species may be present in the caecum in sufficient numbers to afford a macroscopic reaction, in the faeces of the same animal they may be almost absent. It must appear, therefore, that in the intervening portion of the alimentary canal a destruction of the iodophile microorganisms has taken place.

(2) Spirochaetes, Fusobacteria and Protozoa.

Fusobacteria and spirochaetes are conspicuous in the horse and guinea-pig and have also been observed in the squirrel and rat. In the rabbit, on the contrary, neither fusobacteria, spirochaetes nor protozoa have been encountered in any of the animals so far examined, which have been obtained from the most various localities. It is clear that extensive investigation is required absolutely to confirm this negative result. If it were substantiated, it would be necessary to enquire into the nature and mode of operation of the factors by which the proliferation of these microorganisms is restrained or arrested.

The frequent if not invariable absence of protozoa from the caecum of the rabbit demonstrates, furthermore, that these do not in all cases contribute, even if in others they are essential to the effective completion of the cytoclastic process.

g) Comparison with the Microflora and fauna of the Human Mouth.

A resemblance had formerly been noted between the microflora and fauna of the caecum of the guinea-pig and the microorganisms indigenous to the human mouth — a similarity that is again encountered in the horse (6). Thus, in addition to fusobacteria and a wide range of spirochaetes, species of the genus Selemomonas are common to all three localities.

Since, however, to the microflora and fauna of the mouth a high-grade symbiotic organisation can scarcely be ascribed, it would appear as if the features which it shares in common with the caecum of the horse and guinea-pig belong to the order of commensal relationships; to that the resemblance in question may be termed analogies. These analogies may consequently be distinguished from the common features which attend the cytoclastic process in the caecum alike of the guinea-pig, rabbit and horse which by contrast may be termed homologies.

For the rest it is clear that these sharp discriminations are in essence conceptual and that in the actual organisation of functional relationships each is united and neither subordinate to the other. Precisely for this reason and at this point, the inductive data which comparative analysis affords are susceptible of clarification by reference to a formal scheme. To the elaboration of the latter, therefore, we may now directly proceed.

Discussion.

Theoretical Section.

a) Applications of the field-concept to biological problems.

There are scientific concepts that, in consequence of the entirely general presuppositions which they embrace, can be applied to the elucidation of what at first sight may appear to be entirely unrelated realms of investigation (37, 49). So, for instance, we can refer to the establishment of a spatio-temporal sphere of influence or field the organisation not only of electro-magnetic and electrostatic but also of chemical relationships (41). The further extension of the field concept from the level of physical and chemical to that of biological organisation might clearly have been anticipated on general grounds; and has in fact been independantly attempted by several investigators (27, 28, C. V. 10). Thereby it comes to include, in addition to the establishment of those external relationships of the organism termed "adaptations to the environment", the establishment of the internal relationships comprised in the phenomena of organic regulation (C. V. 10). Precisely, in this connection, F. G. Gregory in a study of the energy relations of plants (24, 25) had already called attention, in regard to the growth potentialities of the meristem, to an "unknown factor which determines the final size of organs and organisms" and "enters into the growth function as the final amount to which growth is tending". Of this unknown factor he goes on to state that "it must at present be ac-

cepted as an innate characteristic of a meristem, corellated with the position occupied in the whole organism (Child's metabolic gradient) and determining the final size when all external conditions are maintained optimal".

The process of growth and form production, therefore, bears reference to the establishment of some final state, which is to say, to the maintenance or transmission, and in brief to the endurance of some organised system of internal relationships. Thus just as there are various grades of interconnections so there are different levels of field. In so far, therefore, as in the phenomena of morphogenesis we are concerned with the establishment of the internal relationships requisite to the survival of some living organisation, the most general system of such relationships may not only be formally represented but is actually exemplified as a spatio-temporal sphere of influence or morphogenetic field.

b) Extensions of the field concept.

In the endeavour further to elucidate these general relationships we have in recent papers attempted —

(1) To extend the concept of field from the domain of form to the domain of function.

(2) To extend the concept of internal relationship from the organisation of genetically homogeneous to the organisation of genetically heterogeneous associations. The grounds for this generalisation have been discussed elsewhere (3, 4, 7).

In conformance with these principles, we have attempted, by systematic reference to the field concept and its corollaries, provisionally to interpret the more conspicuous functional activities of the microorganisms indigenous to the caecum. Prominent amongst such corollaries are the concepts of resistance and intensity, to which attention has throughout especially been directed.

c) Functional Intensity and Resistance.

In accordance with the principle of Le Chatelier (15) and in consequence of the inertia of the system, any change of energetical relationship encounters a restraint by which the change effected tends to be annulled. By reason, again, of the entire generality of this principle a relationship between intensity and resistance uniformly obtains of which, at the level of physical organisation, Ohm's law affords the prototype. So, for instance, in the connection already cited, Gregory observes, that "the limitation of cell-division to finite values may be formally represented as a result of resistance to growth dependant actually on the inertia of the chemical and physical processes involved in growth. The growth potential may thus be considered as working against a resistance the magnitude of which depends upon a complex relationship of internal states and external factors" (24, C. V. 25).

Now the general system of such functional relationships constitutes its "sphere of influence" or "field" and is organised, as we have seen, with reference to the attainment of some final state. Thus the intensity of the field established is related at all levels of organisation to the resistance surmounted in its establishment.

d) Functional Organisation of Carbohydrate Metabolism in the Caecum.

(1) The organisation of physical states.

The metabolism of carbohydrates in the caecum affords a number of indicators to the functional relationships established and to the final state toward the attainment of which the system tends. In the cytoclastic process, for instance, we have observed that not only a degradation but also a synthesis of carbohydrates is effected; so that, together with the disintegration of cell-wall substances, a deposition of iodophile polysaccharides is witnessed in the interior of the cytoclastic microorganisms. The iodophile habit, however, is encountered in numerous species, certainly not all and perhaps no more than one of which is directly involved in the disintegration of the plant skeleton. Its presence bears witness accordingly to the persistance of some external factor, in reference to which the metabolism of all the species present is simultaneously adjusted. Now with the deposition of iodine-reacting polysaccharides sucrophile tendencies are very general associated (11, 30, 53). The presence of soluble carbohydrates, therefore, affords an external bond or link in the functional association of sucrophile species. But, whilst this struggle for carbohydrates has its point of departure in relation to determinate external factors, and thus in general to the "fitness of the environment" (29), in the attainment of the final state towards which it tends the functional activities of the indigenous microorganisms are internally organised, so at least we have already conjectured (7, 8), in reference to the metabolic requirements of their host.

Thus, amongst the chemical transformations to which in the metabolism of living organisms soluble carbohydrates are naturally liable, a number of alternatives are comprised. With many such chemical transformations, moreover, changes of physical state are closely associated; a factor upon which the regulation of carbohydrate storage and translocation in plant and animal tissues largely devolves. The potentialities of chemical transformation therefore that are formally exemplified in the system of carbohydrate relationships is of such a kind that the thermodynamical tendency of the components of a system to "escape" (33) may actually be realised along a number of alternative routes.

Thus, on the one hand, the "tendency to escape" may issue, through glycolysis, in the successive formation of compounds of increasing dispersion; and so pass from liquid to the eventual liberation of gaseous phases.

On the other hand, by successive polysaccharide condensations, dispersion may be progressively diminished; and so result in the precipitation of solids of increasing molecular weight. By the preponderance in the meantime of glycolysis or condensation respectively the final state is characterised toward the attainment of which the system tends. Thus whereas, through glycolysis, the "tendency" to escape is realised by the liberation of soluble or gaseous components, through the alternative route the dissipation of liberated substances is inhibited, and the tendency realised by the removal of the precipitated products of condensation from further participation in the reactions taking place. By the deposition, therefore, of iodophile polysaccharides in the indigenous microorganisms of the caecum a variable portion of the available sugar is rendered inaccessible to the acti-

vities of attendant glycolytic species and a storage of carbohydrates thereby temporarily effected. Thus it is clear, for example, that the functional organisation of carbohydrate metabolism in the soil differs from that in the gastro-intestinal tract with reference to the final state towards which the systems respectively tend; so that, of the available thermodynamical alternatives which the tendency to escape of the components can in principle exemplify, it is the process of glycolysis or external liberation that in fact is realised in the soil, and the process of condensation or internal liberation in the alimentary canal.

(2) The organisation of chemical composition.

In the establishment, however, of a field of functional relationships an organisation not only of physical but also of chemical characteristics is effected. So, for instance, it is known that in the range of polysaccharide condensations are comprised the real potentialities for recombination and synthesis of a limited number of structural units. But, it is familiar that upon the chemical and stereochemical configurations of the substances synthesised depends their accessibility to the action of hydrolytic enzymes. Again, it is evident from their nomenclature alone, that the classification of enzymes is *par excellence* functional and, that, through reference to the characteristics of its substrate the functional status of an enzyme is automatically defined. If on these grounds we may attempt a generalisation, we shall regard the organisation of the functional field as associated in each instance with a determinate pattern of carbohydrate transformations in which are defined the chemical potentialities requisite to the establishment of the functional relationships which it embraces.

(3) The pattern of polysaccharide condensation.

To the kind of polysaccharide condensation effected the colour reactions with iodine afford, in certain instances, reliable indicators (9). In this connection we have repeatedly remarked the deposition in the caecum of *blue-reacting* carbohydrates of an amylodextrin type. In all three localities, blue-reacting polysaccharides are prominent in a variety of the microorganisms present; amongst which the cytoclastic species must be numbered. In the pattern of polysaccharide condensations effected, therefore, it is the blue-reacting rather than the red-reacting iodophile substances that predominate. Thus the induction of the iodophile habit bears witness to the establishment of a functional field and issues in what may properly be termed a phenomenon of functional convergence (8). On this assumption, therefore, the variety and diversity of species upon which the functional characteristic is imposed, which is to say the degree of convergence effected, affords a measure of the resistance surmounted in the establishment and in consequence of the functional intensity of the field.

e) *Functional activities and metabolic requirements.*

By the maintenance of a determinate pattern of polysaccharide condensations, a canalisation of energies is effected such that the activities of the indigenous microorganisms converge upon a final state organised in conformance to the metabolic requirements of their host. But in order that this carbohydrate may in due course be assimilated by the host organism it must at some subsequent period become accessible to the digestive secretions of the alimentary canal. According to this view, we may postulate, as formerly

remarked, that the initial phase of storage is succeeded by a terminal phase in which the reserve of polysaccharides is liberated. This liberation we can assign to the autolysis, whether spontaneous or induced, of the iodophile microorganisms; so that to its occurrence we may attribute the spectacular decrease of iodine reacting species in the lower regions of the bowel. Furthermore, we can suppose that whereas in some animals, such as the rabbit, the liberation is directly effected by the intestinal secretions, in others, such as the horse, it is reinforced or even entirely accomplished by the indigenous protozoa, which are themselves in turn digested. Functional interconnections of this kind have already been discussed in the comparative section.

It is arguable, therefore, and may provisionally be conjectured, that, by the preponderance of starch-like carbohydrates in the pattern of polysaccharide condensations, the action of amyloclastic enzymes is facilitated; in consequence of which the iodophile substances deposited become accessible either, directly, to the digestive secretions of the alimentary canal, or else to the intracellular enzymes of the protozoa by which they are first ingested.

f) Commensal and Symbiotic Relationships.

Through reference to the schema of functional relationships formally outlined above a precise functional status has now been hypothetically assigned to the iodophile and cytoclastic microorganisms of the caecum. But these species are accompanied by others whose relation to the organisation of the totality it still remains, albeit no more than tentatively, to foreshadow. For the characteristics by which as indicators the functional field is exemplified are organised with reference to a multiplicity of internal states and external factors. Now, in so far, on the one hand, as the characteristics of the association are determined by the mere external relationship of its constituent species to a common factor of the environment we may speak of commensalism; whereas, in so far as they are determined by their internal relationships one to another, we may speak of symbiosis. Not only, therefore, can the relation of commensalism to symbiosis be defined with reference to the intensity of field established; but, within its finite sphere of influence, an "orbit" of commensal will tend in every instance to accompany the integration of a "focus" of symbiotic relationships. So, for instance, we have shewn the presence in the horse and guinea-pig of a number of microorganisms, amongst which fusobacteria and spirochaetes are conspicuous, which make no obvious contribution to the metabolic functions of their hosts. Moreover it is just these genera which, though absent from the caecum of the rabbit, are indigenous to the human mouth. Everything therefore happens as if the loosely integrated and externally determined type of commensal association encountered in the mouth was reestablished in the caecum as the orbital fringe to a focus of internally organised and genuinely symbiotic relationships.

Clearly it is not possible on cursory inspection everywhere to discriminate between the primary and accessory components of an integrated community of microorganisms; so that, to the further analysis of these relationships, protracted investigation may be necessary. It may, none the less, be legitimate to conjecture, that, in certain instances, the presence of accessory microorganisms, themselves not primarily concerned in the metabolic process, may still contribute, by virtue of their influence upon the chemical

resistance of its subordinate components, to the final determination of the state toward the attainment of which it uniformly tends.

g) The proximate factors of functional organisation in the caecum.

It remains in conclusion summarily to indicate some actual factors upon which the maintenance of a functional organisation in the caecum rests. Now it is clear that, in the ultimate instance, the relationships established issue from and devolve upon the individual metabolic activities of the micro-organisms concerned. We have conjectured, moreover, that the destruction of the iodophile species at a final term of the process may subserve the nutritional requirements of their host. On this assumption, however, it is evident that, for the continuity of the process to be ensured, rapid multiplication must at some period make good the losses sustained. Thus the endurance of the field involves the maintenance of a dynamic equilibrium; and the persistance of its functional relationships the preservation of statistical normality between the individuals present.

Now here as elsewhere we must suppose that regulation issues from the simultaneous operation of many factors. Physical and chemical conditions, for example, such as the hydrogenion concentration, oxidation-reduction potential and carbon-nitrogen ratio of the medium will no doubt exert an important influence; an influence, moreover, that is in principle subject to control by the secretions of the host organism (cv. Wiedemann, 50). Again, to the habits of feeding and reciprocal interadjustments of the micro-organisms themselves a determinate role must be assigned; which only becomes the more conspicuous where, as in the instance of the protozoa, it issues directly in the ingestion of one species by another. A detailed knowledge of the lifecycles and metabolic activities of the individual species may thus be pre-requisite to the elucidation of the actual interconnections or "real togetherness" (49) of the system, in the progressive analysis of whose functional components a rich and varied province is open to investigation. In the meantime it is clear on general grounds, that a coordination of growth rates is presupposed in the organisation alike of genetically homogeneous and genetically heterogeneous associations; so that the "unknown factor" (24) to which the maintenance and transmission of their functional relationships continuously bears reference is exemplified in the guise of a temporal process.

Summary and Conclusions.

1. The microflora and fauna of the caecum of the horse were studied by direct microscopical observation.

2. The relation of microorganisms to the disintegration of cell-wall substances was determined by the conjoint application of polariscopic and microchemical methods.

3. It was demonstrated that the cytoclastic process is occasioned by the action of iodophile microorganisms exercised in situ.

4. The shape of the lacunae corresponds to the outline of the micro-organisms, whose distribution is to a large extent governed by the gross and fine-structured configurations of the substrate.

5. Disintegration of the cellulose and hemicellulose components is evidenced by loss of double-refraction in the affected regions, and is accompanied by change in microchemical and staining reactions.

6. Two phases may be distinguished in the destruction of the optically birefringent polysaccharides. In the first, the colour reaction with chlorzinciodine and staining with congo-red are intensified; whilst the micellar substratum remains intact. In the second, the micellar substratum is entirely disorganised, double-refraction ceases, and both microchemical and staining reactions disappear.

7. The influence of intermicellar components upon the disintegration of cellulose was investigated. It was concluded that the attack is unaffected or even accelerated by the presence of pectins and hemicelluloses; that cutin entirely resists and that heavily lignified structures are in part immune to the cytoclastic process.

8. Evidence was brought forward that appears to show that the cytoclastic microorganisms, which include vibrionic and coccoid forms, are stages in the life-cycle of a single polyphasic species.

9. The functional capacities of the indigenous protozoa were investigated in species of the genera Cycloposthium, Paraisotricha, Didesmis, Blepharocorys and Blepharoconus. Digestion of starch grains and of iodophile microorganisms was observed. Ingestion of cell-wall substances was, in comparison, infrequent or altogether absent. It was conjectured that the size of the particles affords an important limiting factor. Only the smaller fragments can be ingested; and these are, in the majority of cases, already in process of disintegration through the action of adherent cytoclastic microorganisms. On these grounds, it was concluded that the protozoa are not primary agents in the disintegration of cell-wall substances in the caecum.

10. The presence of a rich iodophile microflora was established and the characteristics of a number of species briefly outlined. Amongst the an-iodophile species, spirochaetes, fusobacteria and spirilla were especially prominent.

11. The cytoclastic process in the caecum of the horse was compared with that previously described in the caecum of the guinea-pig and rabbit. An essential similarity was remarked; both in the features which attend the disintegration of the micellar substratum, and in the characteristics of the iodophile microorganisms by which the changes are occasioned. Comparisons were also instituted between the cytoclastic processes and microorganism in ruminant and non-ruminant herbivora and those recorded in insects. It was concluded that a role may provisionally be assigned to the indigenous protozoa of herbivora comparable in some respects to that established by Wiedemann for the species indigenous to the larvae of Lamellicorns. A direct analogy with the cytoclastic species investigated by Cleveland in the termite and roach appears untenable.

12. The presence and characteristics of an. iodophile microflora was discussed with reference, in general, to the establishment of a functional field and, in particular, to the organisation of carbohydrate metabolism in the caecum. The intensity of the field established was related to the number and diversity of species upon which the iodophile habit is imposed and to the resistance surmounted in its establishment. It was urged that the concept of functional resistance may be profitably extended from the elucidation of parasitic to that of symbiotic relationships.

References to Literature.

1. Ambronn, H., Ber. Sachs. Ges. Wiss. Bd. 48. 1896. — 2. Ambronn, H., Koll. Ztschr. 18/20. 1916. — 3. Baker, J., Science Progress. No. 98 a. 99. Oct. 1930, Jan. 1931. — 4. Baker, F., Journ. Roy. Coll. Sci. No. 4, 5, 6. 1934—1936. — 5. Baker, F., Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 84. 1931. — 6. Baker, F., Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 88. 1933. — 7. Baker, F., and Martin, R., Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 96. 1937. — 8. Baker, F., and Martin, R., Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 97. 1937. — 9. Barger, G., Blue Adsorbtion Compounds of Iodine. Organic Chemistry in Biology and Medicine. 1930. — 10. Bertallanfy, L., Modern Theories of Development. Oxford 1933. — 11. Boas, F., Zentralbl. f. Bakt., Abt. H. Bd. 51. 1920. — 12. Braune, R., Arch. f. Protistenkde. Bd. 32. 1914. S. 111. — 13. Brumpt and Joyeux, Bull. Soc. Path. Exot. T. 5. p. 499. — 14. Bundle, A., Ztschr. f. Wiss. Zool. Bd. 60. 1895. S. 284—350. — 15. Chatelier, Le H., Recherches sur les equilibres chimiques. Paris 1888. — 16. Cleveland, L., Quart. Rev. Biol. Vol. 1. p. 51—60. — 17. Cleveland, L., The Wood-Feeding Roach. Cryptocercus, its Protozoa, and the Symbiosis between Protozoa and Roach. (Mem. Amer. Acad. Art. a. Sci. Vol. 17. 1934. No. 2. Full Bibliography.) — 18. Colin, Traité de Physiologie Comparée des Animaux Domestiques. Paris 1854. — 18 a. Doflein, F., Lehrbuch der Protozoenkunde. 5. Aufl. — 19. Ferber, K. E., Ztschr. f. Tierzücht. Bd. 12. 1928. — 20. Ferber and Winogradowa, Biol. Zentralbl. Bd. 49. 1929. — 21. Fiorentini, Intorno ai Protisti dell' intestino degli equini. Pavia 1890. — 22. Frey-Wyssling, Die Stoffausscheidung der höheren Pflanzen. Berlin 1935. — 23. Gassowsky, Trav. Soc. Nat. Petrograd. Bd. 49. 1918. S. 20. — 24. Gregory, F. G., Studies in the Energy Relations of Plants. II. Part I. (Ann. Bot. Vol. 42. April 1928. No. 166.) — 25. Gregory, F. G., and Horne, Proc. Roy. Soc. B. Vol. 102. 1927. p. 427—443. — 26. Gruby and Delafond, Recherches sur des Animalcules se développant en grand nombre dans l'estomac et dans les intestines, pendant la digestion des animaux herbivores et carnivores. (Recueil de médicine vétérinaire practique. Vol. 20. Paris 1843.) — 27. Gurwitsch, A., Über den Begriff des embryonalen Feldes. (Arch. f. Entwicklungsmechanik. Bd. 51. 1921.) — 28. Gurwitsch, A., Weiterbildung und Verallgemeinerung des Feldbegriffes. (Arch. f. Entw. Bd. 112. 1927.) — 29. Henderson, L., The Fitness of the Environment. New York 1913. — 30. Henneberg, W., Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 53. 1922. — 31. Knaggs, Journ. Soc. Dyers a. Colourists. Vol. 24. 1908. p. 112. — 32. Knorr, M., Zentralbl. f. Bakt., Abt. I. Bd. 89. 1922. — 33. Lewis, G. N., Thermodynamics and the Free Energy of Chem. Substances. N. Y. 1923. — 34. Mangin, L., Compt. Rend. T. 111. 1890. — 35. Mangold, E., Naturwiss. Bd. 16. 1928. S. 65. — 36. Mehta, Biochem. Journ. Vol. 19. 1925. p. 979. — 37. Meyerson, E., De l'Explication dans les Sciences. Paris. — 38. Miller, H., Microorganisms of the Human Mouth. Philadelphia 1890. — 39. Pochon, J., Rôle d'une bactérie cellulolytique de la panse. Laval 1935. — 40. Reichenow, E. von, Arch. f. Protistenkde. Bd. 41. 1920. S. 1. — 41. Rinne, F., Crystals and the Fine-Structure of Matter. London 1924. — 42. Scheunert, A. und Schieblich, M., Handbuch norm. u. path. Physiol. Bd. 3: Verdauung und Verdauungsapparat. 1927. — 43. Schwalbe, K. G., Dtsch. Chem. Bot. Ges. Ber. Bd. 1. 1921. S. 545. — 44. Schwartz, W., Untersuchungen über die Symbiose von Tieren mit Pilzen und Bakterien. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 6. Heft 4. 1935. Nr. 4.) — 45. Schwarz, K., Biochem. Ztschr. Bd. 156. 1925. S. 130. — 45 a. Simons, H., Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 50. 1920. — 46. Smith, R. M., The Physiology of the Domestic Animals. Philadelphia 1890. — 47. Thaysen, A. C., and Bunker, H. J., The Microbiology of Cellulose etc. Oxford 1927. — 48. Trier, Ztschr. f. vergl. Physiol. Bd. 45. 1926. S. 305. — 49. Whitehead, A. N., Process and Reality. Cambridge. — 50. Wiedemann, J. F., Ztschr. f. Morph. Ökol. Tiere. Bd. 19. 1930. S. 228. — 51. Wood, Ann. Bot. Vol. 40. 1926. p. 547. — 52. Yonge, C. M., Biol. Rev. Vol. 12. Jan. 1937. No. 1. — 53. Zopf, W., Ber. Dtsch. Bot. Ges. Bd. 18. 1900.

Explanation of Plates.

Plate I.

1. (a, b). Disintegration of the optically birefringent polysaccharides. Mercuric Iodide-Iodine technique. Polarised light. — (a) Nicols uncrossed. The cellulose is lightly stained (brownish) by the iodide and exhibits a slight Ambronn effect. The left margin of the specimen is in active process of erosion. Formation of lacunar inci-

sions. Within the lacunae are the cytoclastic microorganisms; which are stained a deep indigo. — (b) Nicols c r o s s e d. Same preparation. The intact wall shows strong double-refraction; which is entirely absent in the eroded regions (cv. Plate I, 2, 6, and Plate II, 4). Precise correspondence in contour between loss of birefringence in (b) and outlines of lacunae in (a). Leitz $^1/_6$″. N. A. O. 85. Oc. 1.

2. Similar prep. to 1 showing extensive lacunation of the surfaces of contiguous cell-walls. Note entire perforation of the wall with complete loss of double refraction. $^1/_6$″. Oc. 3.

3. (a) Disintegration of optically birefringent polysaccharides. Congo-Red technique. Counterstained Iodine. Mounted in sat. Calcium chloride. The intact walls are light pink; the iodophile microorganisms blue. A clearly defined fossa surrounds each organism. At the margins of the colourless fossae and lacunae the staining is intensified to a deep scarlet (cv. Plate II, 1 and 2). Leitz $^1/_{12}$″. homog. imm. N. A. 1. 3. Oc. 4. — (b) Ditto. Single organism (blue) surrounded by fossa (colourless) with intensified margin (scarlet). $^1/_{12}$″. Oc. 25.

4. Similar prep. st. Chlorzinciodine. Iodophile microorganisms in lacunae. The curvilinear outlines of the chains conforms to the marginal contour of each lacuna. Intact walls bluish with intensified staining at margins of lacunae. $^1/_{12}$″. Oc. 3.

5. (a, b). Ditto. In (a) a dense layer of iod. microorganisms surrounds the edge of a wall in process of disintegration. In (b) the formation of lacunae can be seen simultaneously to proceed upon the surfaces of three contiguous cells. It can be observed that the margins of the lacunae are in each instance entirely lined by a layer of cytoclastic organisms. To the left a strip of detached cuticle can be seen which remains immune from attack and in which both organisms and lacunae are consequently absent. Cutin bright yellow. Organisms indigo. Cellulose bluish.

6. Epidermal hair in process of disintegration. Mercuric Iodide Iodine. Crossed nicols. The birefringent polysaccharides of the lower portion of the hair have been almost entirely dissolved. Portions of the primary wall and the thickened base still remain. $^1/_6$″. No ocular.

P l a t e II.

1. (a, b). Contiguous cell-walls in process of disintegration. Congo-Red Iodine. Extensive lacunation with dense infiltration of the entire tissue by iodophile microorganisms. An excision of fragments with map-like contours is effected (cv. Plate II, 5). In many places, the boundaries between the contiguous walls have become entirely obliterated. Intensified staining at the margins of the lacunae. $^1/_6$″. Oc. 3.

2. (a, b). Ditto. Under a single nicol. Dichroic intensification. Ambronn effect.
(a) Position of minimum } intensification.
(b) Position of maximum }

In (a) the coloration at the margins is diminished; and the iod. microorganisms, in consequence, become more prominent. In (b) it is greatly increased, showing that in the initial stage of disintegration the micellar organisation still remains intact. This stage perhaps embraces the surface adsorbtion of the enzyme. Within the lacunae staining abruptly ceases in both (a) and (b). In the final stage of disintegration, therefore, there is complete disorganisation of the micellar substratum.

3. Preparation treated with Z i m m e r m a n's reagent (Iodine in Calcium Chloride). Intact portions deep mauve. Lacunae colourless. The iodophile microorganisms though visible are shrunken by this reagent.

4. Formation of a lacuna which embraces portions of the surfaces of two contiguous walls. Mercuric Iodide iodine. Crossed nicols. At the margins the fossae of individual microorganisms can be seen. The intact boundaries of the fossae form attenuated finger-like projections. These can be observed, in favourable instances, roughly to lie in parallel series; whose respective orientations correspond approximately to the internal structural configurations of the wall. Where the attack is much advanced the planes of disintegration intersect and the relationship tends to be obscured. By comparison with the foregoing photographs it can be observed that loss of double refraction (crossed nicols) is accompanied throughout by disorganisation of the micellar substratum (single nicol. Ambronn effect) and by change in or disappearance of micro-chemical reaction (Chlorzinciodine, Z i m m e r m a n's reagent, Cong-Red). $^1/_6$″. Oc. 1.

5. Fragment of birefringent polysaccharide excised from the surface of a wall (cv. Plate II, 5). The map-like contour results from the incursion of lacunae. Mercuric iodide iodine. Crossed nicols. $^1/_6$″. Oc. 1.

6. Aniodophile Spirillum (see p. 407 [4]). Stained fuchsin-anilin oil. $^1/_{12}$″. Oc. × 25.

7. Sarcina (see p. 406). Fuchsin-anilin. $^1/_{12}$". Oc. 4. Iodophile.

8—10. Indigenous protozoa. $^1/_6$". Oc. 3. 8 and 10. Blepharoconus (?) sp. Iodised glycerin. In (8) the posterior and in (10) the anterior bundles of cilia are visible. In both a mass of included starch grains can be observed.

9. Didesmis ovalis Fior. The crater-like mouth, macronucleus, anterior and posterior bundles of cilia and anal slit are visible. In the endoplasm are starch grains, in an advanced stage of disintegration, and numerous iodophile microorganisms.

Plate III.

1. (a, b, c). Indigenous protozoa contd. Cycloposthium bipalmatum (Bundle). Iodised glycerin. (a) and (b) are in process of division. Medial fracture of the skeletal rods, can be observed; and lateral new-formation of cilia. In (a) the cyclostome is partly extruded, in (b) retracted. (c) Very large specimen in which division has just commenced. In all three, abundant ingestion of starch grains, which are in various stages of disintegration. With the aid of a lens numerous iodophile microorganisms can be observed in the endoplasm. $^1/_6$". Oc. 3.

2. Unclassified iodophile microorganism. D (see p. 408). Grams Iodine. The organisms are embedded in a diffuse mucilage which exhibits a blue reaction. The individuals form chains, being typically united by their aniodophile (clear) poles. $^1/_6$". Oc. 3.

3. Closely coiled iodophile spirillum (?) (see p. 406). Grams Iodine. $^1/_6$". Oc. 3.

4. Unclassified iodophile microorganism. B (see p. 408). Gram's Iodine. Long chains of coccoids rich in iodophile substance, but with aniodophile junctures. $^1/_6$". Oc. 3.

5. Ditto. Tumescence of the iodophile coccoids. In the lower left hand specimen the coccoids can be seen to proceed from the enlargement of an aniodophile filament. In the specimen at the centre it can be observed that increase of iodine reaction runs concurrently with tumescence. $^1/_6$". Oc. 3.

6. Unclassified iodophile microorganism. C (see p. 408). The organism forms long streptococcus-like chains which however are Gram-ve. In the present specimen localised tumescence of the coccoids can be observed. As in 5, it is accompanied by an intensified deposition of iodophile substance. $^1/_6$". Oc. 3.

7. (a, b, c). Spirochaetes. Fuchsin-anilin method. Aniodophile. $^1/_{12}$". Oc. × 25.

8. Giant Spirillum. Fuchsin-Anilin. Iodophile. Gram-ve. $^1/_{12}$". Oc. 4.

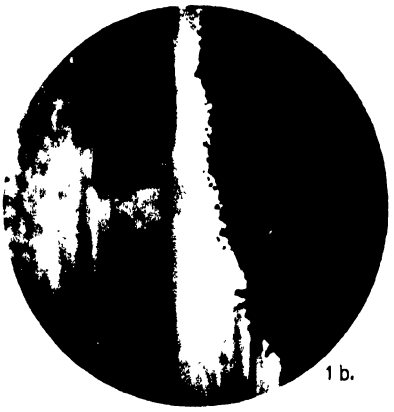
9. Coccoid phase of above (?), see p. 409. $^1/_{12}$". Oc. 4.

Acknowledgments.

The observations contained in the present paper were made with a Watson Circuit Stage Van Heurck microscope, provided by the Dixon Fund of the University of London to whom my thanks are due. F. A. B.

We have to acknowledge our indebtedness to Dr. F. C. Minnett of the Royal Veterinary College who was kind enough to provide us with the coecal contents upon which the observations were made. To Prof. F. G. Gregory of the Imperial College of Science and Technology, London, our thanks are especially due for the sustained interest he has shewn in these investigations. In particular, and as on a number of previous occasions, for the underlying concepts which we have attempted to develop in the discussion of the results we are to the largest extent indebted to his criticism and suggestions. F. A. B.
R. M.

1a.

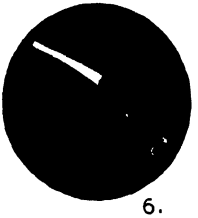

1b.

2.

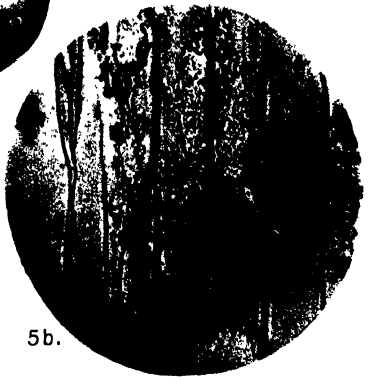
3a.

3b.

4.


6.

5a.


5b.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

1a.

3.

1b.

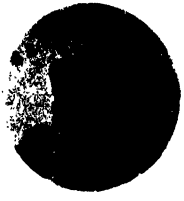
2a.

2b.

4.

5.

6.



7.

8.

9.

10.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

Verlag von Gustav Fischer in Jena

Referate.

Allgemeines und Methodisches.

Morton, H. E., and Pulaski, E. J., The preservation of bacterial cultures. I. (Journ. Bact. Vol. 35. 1938. p. 163—183.)

Verf. empfiehlt, zur Erhaltung von auf schräg erstarrtem Agar in Reagenzröhrchen in üblicher Weise gezüchteten Bakterien-Sammlungskulturen diese bis zu 1 cm über die Agarschicht hinaus mit flüssigem Paraffin zu überschichten. Das Austrocknen wird so verhindert, die Bakterien bleiben länger am Leben, sind leicht und jederzeit abzuimpfen und die Gefahr der Fremdinfektion, vor allem mit Schimmelpilzen, wird stark verringert.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Hunter, Ch. A., and Crecelius, H. G., Hydrogen sulfide studies. I. Detection of hydrogen sulfide in cultures. (Journ. Bact. Vol. 35. 1938. p. 185—196.)

Beim Vergleich von Wismut-, Blei- und Eisensalzen als Indikatoren zum Nachweis von in Bakterienkulturen gebildetem Schwefelwasserstoff war Wismut den beiden anderen Elementen überlegen. Der Indikator wird wie folgt hergestellt: 3 g Wismutzitrat werden mit 10 ccm dest. Wassers gut gemischt und dann durch allmähliche Zugabe von 1 ccm Ammoniak vom spez. Gewicht 0,9 vollständig gelöst. Wenn nötig, kann man den Vorgang durch leichtes Erhitzen beschleunigen. Dann wird auf 100 ccm mit dest. Wasser aufgefüllt und von dieser Lösung 0,5 ccm einer Nährlösungsmenge von 100 ccm zugefügt. Die Nährlösung enthält u. a. 0,2% Natriumsulfit.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Schütz, F., Demonstration eines neuen Nährbodens. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 140. Heft 3/8. 1937. S. 118—119.)

Es handelt sich um einen Nährboden, der mit Polyvinylalkohol (C_2H_3OH) als Ersatz für Agar bereitet wird. Es ist allerdings der Zusatz von Kongorot erforderlich, damit die Temperatur der Gelbildung heraufgesetzt (tritt bei 80° ein) und der Nährboden bei gewöhnlicher Temperatur fester wird. Ohne Kongorot ist der Nährboden zu stark viskös und macht das Ausspateln zur Unmöglichkeit. Der Nährboden ist auch zur Diagnose der Darmbakterien bzw. zur Trennung der milchzuckervergärenden von den nichtsäuernden Keimen verwendbar, wenn Milchzucker (1—3%) und Bromthymolblau zugesetzt werden. Die Säurebildner hellen die rote Farbe auf, in der Aufsicht erscheinen sie gelb. Proteusbakterien werden in ihrem Schwärmvermögen merklich gehemmt.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Blaas, K., Über neue Methoden zur Desinfektionsmittelprüfung. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I., Orig. Bd. 140. 1937. S. 51—62.)

Es wurden im Suspensions- und Keimträgerversuch Zephirol, Trioform Goldsiegel, Trioform Standard, Chloramin, Sagrotan, Resaform und zum Vergleich Phenol auf ihre Wirksamkeit geprüft. Als Keimträger dienten: 1. durch Waschen und Alkohol sterilisierte Erbsen (so weit sterilisiert, daß sie nur zu 50% ihre Keimfähigkeit eingebüßt hatten); 2. Haselnüsse, unter aseptischen Bedingungen entschalt.

Im Suspensionsversuch erwiesen sich Zephirol und Chloramin den anderen Stoffen deutlich überlegen. Trioform Goldsiegel zeigte bessere Wirkung als

Sagrotan. Resaform und Trioform Standard entfalteten eine relativ geringe Wirkung.

In den Keimträgerversuchen wirkte keines der Mittel befriedigend. Am besten schnitt hierbei Zephirol ab.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Pesch, K. L., Vorschlag zur Wertung der Ergebnisse von Desinfektionsmittelprüfungen. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 140. 1937. S. 81—88.)

Es wird der Vorschlag gemacht, für die Auswertung der Ergebnisse einer Desinfektionsmittelprüfung und damit für den Vergleich der Wirkung mehrerer Desinfektionsmittel miteinander den sich aus mehreren Versuchsreihen mit verschiedenen Bakterienarten ergebenden „Wirkungswert" („Wirkungszahl") einzuführen. Der bisher gewöhnlich bestimmte „Phenolkoeffizient" ist hierfür allein aus dem Grunde ungeeignet, weil die so gewonnene Zahl das Ergebnis der Prüfung eines einzelnen Bakterienstammes und eines einzigen an sich variablen Versuches ist.

Der sich aus einem Vergleich mit Phenol errechnende „Wirkungswert" ist natürlich abhängig von der benutzten Prüfungsmethode, zu der Verf. Erbsen als Keimträger heranzog. Es ist deshalb noch eine Nachprüfung mit anderen Keimträgern und durch die „Suspensionsmethode" erforderlich.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Hoffmann, S., Bakteriologische und hygienische Erfahrungen bei Desinfektionsversuchen vermittels des Elektrokatadyn-Verfahrens. (Arch. f. Hyg. u. Bakt. Bd. 120. 1938. S. 147—165.)

Das Elektrokatadyn-Verfahren scheint zur Desinfektion von Trinkwasser gut geeignet. Seine besonderen Vorzüge sind: Geruchlosigkeit, keine Gefahr der Überdosierung, das Wasser behält seine bakterizide Fähigkeit längere Zeit. Die zur sicheren Desinfektion durchschnittlich benötigte Silbermenge beträgt 350—400 γ je Liter. Die Beeinflussung der Keime ist keine sofortige, es muß — ähnlich wie bei anderen Desinfektionsverfahren — genügend Zeit zur Wirkung gelassen werden; vor Ablauf von 1 Std. darf das Wasser nicht als desinfiziert angesehen werden.

Frisch aus natürlichem Material isolierte Keime erwiesen sich gewöhnlich widerstandsfähiger als Laboratoriumskulturen. Den Keimarten nach zeigten die regelmäßig im Wasser vorkommenden Asporogenen die geringste Resistenz, merklich resistenter waren Mycobakterien. Sporen konnten selbst mit 20 000 γ im Liter nicht abgetötet werden, wurden aber schon durch die normalen Dosen inaktiviert (Auskeimung nach Übertragung in Bouillon, nicht dagegen im desinfizierten Wasser).

Konservierungsversuche mit Würsten, die bei 20—25° aufbewahrt wurden, ergaben, daß die unter Verwendung von katadynisiertem Wasser (500—1000 γ/l) hergestellten Würste nach Aussehen, Geruch und Geschmack bis zu 10 Tagen den Kontrollwürsten deutlich überlegen waren (vor allem zeigten jene kein Schmierigwerden an der Oberfläche trotz beibehaltener Feuchtigkeit). Dies hat namentlich dann Bedeutung, wenn Würste für kürzere Zeit unter ungünstigen Bedingungen aufbewahrt werden müssen (Proviant). Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virus-Untersuchungen.

Seiffert, G., Filtrable Mikroorganismen in der freien Natur. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 140. Heft 3/8. 1937. S. 168—172.)

Es ist Verf. mit ziemlicher Regelmäßigkeit gelungen, aus Filtraten von Kompost, Jauche, Erde usw. Mikroorganismen zu züchten, die anscheinend eine besondere Gruppe darstellen. Das zu untersuchende Material wurde nach mehrtägiger Anreicherung in Traubenzuckerbouillon durch Membranfilter filtriert. Das Filtrat wurde sofort oder nach abermaliger Anreicherung auf Agarplatten mit Serum- oder Aszites- sowie Hämo-

globinzusatz ausgestrichen. Nach 4—6 Tagen entwickelten sich — am besten bei Zimmertemperatur — tautropfenähnliche Kolonien, die in den Erstkulturen oft nur mit der Lupe nachweisbar waren. Soweit die Weiterzüchtung gelang, wurden die Kolonien mitunter bis zu 1—2 mm groß. Wurden die Kulturen in Traubenzucker-Aszites-Bouillon übertragen, so entwickelte sich nach einigen Tagen eine sehr feine Trübung. Bei der mikroskopischen Prüfung erschienen die jungen Kulturen in gefärbtem Zustand als sehr kleine Körperchen von meist nicht ganz gleichmäßiger Form. Die besten Bilder lieferten Klatschpräparate von Plattenkulturen. Die Färbung gelang mit konzentriertem heißen Karbolfuchsin, Karbolthionin, Viktoriablau Giemsa, Eisenhämatoxylin mit Vorteil wurde eine Vorbehandlung mit Chromsäure angewandt. Keine Färbbarkeit nach Gram oder Ziehl. Mit zunehmendem Alter wurde die Form immer unregelmäßiger, dazu traten ringartige oder bläschenförmige Gebilde auf, die oft bis zur Größe kleiner Hefezellen auswuchsen. Diese lösten sich allmählich auf und im Innern erschienen wieder feinste Körperchen, wie sie in den Anfangsstadien beobachtet wurden. Die Körperchen hatten die Mindestgröße von ungefähr 150 mμ, entsprachen also etwa derjenigen der Elementarkörperchen bei Vaccine.

Einzelne Stämme waren durch Abschwemmen kaum vom Nährboden zu trennen. Methylenblau wurde reduziert, ein Abbau von Zuckerarten war nicht nachweisbar. Zum Teil trat Wachstum unter anaeroben Bedingungen auf. Galle und taurocholsaures Natrium führten zu schneller Auflösung, auch gegenüber Kaliumpermanganatlösungen bestand außerordentliche Empfindlichkeit (bis 1 : 100 000); dagegen zeigte sich erhebliche Resistenz gegenüber Glyzerin (50proz.) und Karbolsäure (0,5proz.).

Die beschriebenen Mikroorganismen ähnelten in ihrem kulturellen und mikroskopischen Verhalten den Erregern der Peripneumonie und Agalaktie. Weiter wird auf eine gewisse Ähnlichkeit mit den Pettenkoferien und den C-Formen von Kuhn hingewiesen. Da optimale Nährböden ohne besondere Zusätze (Lithiumchlorid) zur Anwendung kamen, kann es sich in diesem Fall — im Gegensatz zu den Kuhnschen Formen — nicht um Degenerationserscheinungen handeln. Es wird die Vermutung geäußert, daß diese Organismen den Übergang zu pathogenen Virusarten bilden.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Ørskov, J., Zur Morphologie der von G. Seiffert kultivierten Mikroorganismen. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 141. 1938. S. 229—232.)

Die Nachprüfung der von G. Seiffert gefundenen Kulturen hat ergeben, daß es sich sicher um Mikroorganismen handelt. Morphologisch gehören sie — wie schon Seiffert vermutet hatte — zur Peripneumonie-Agalaktie-Gruppe.

Die Initial- oder Terminalformen sind kleine Kugeln oder eiförmige Körperchen, die zu einem fein verzweigten, kurzfädigen Myzel auswachsen. Die großen geschwollenen Kugelformen treten besonders in alten Kulturen und unter schlechten Wachstumsbedingungen auf. Sie werden deshalb als Involutionsformen angesehen.

Als Bezeichnung wird für diese Gruppe von Organismen die von Frosch für Peripneumonievirus vorgeschlagene Benennung „Mikromyzes" empfohlen.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Nyberg, O., Mutationserscheinungen an einem Aerobacterstamm. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 141. 1938. S. 368—374.)

Durch Züchtung in Bouillonfiltraten wurde ein aus Harn isolierter grampositiver Aerobacter-Stamm zum Mutieren gebracht, wobei zunächst ein gramnegativer, weniger schleimig wachsender Typus entstand. Aus dieser S-Form spalteten später weiter ab eine R-Form und eine polymorphe Form. Die Kolonien dieses letzten Typus entwickelten sich zum Teil abnorm langsam, und die enthaltenen Bakterien zeigten einen eigentümlichen Entwicklungsgang. Die Keime waren abnorm groß und ungewöhnlich gestaltet (Schlauchformen). Sie schienen entweder in kleine Stücke bzw. normale Bakterien zu zerfallen oder zu platzen und Gebilde zu entleeren, die alle

Stufen vom Körnchen bis zur normalen Zelle aufwiesen. Es wird die Ansicht geäußert, daß es sich um eine neue Vermehrungsart der Bakterien gehandelt hat. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Habs, H., Zur Frage der Enterokokkentypen. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 140. Heft 3/8. 1937. S. 94—95.)

Es gibt unter den äskulinspaltenden sog. Enterokokken 2 Typen, die sich durch das Vorhandensein bzw. den Mangel der Fähigkeit zur Azetylcholinbildung unterscheiden. Die acetylcholinpositiven Formen spielen eine sehr wichtige Rolle bei der künstlichen Einsäuerung der Nahrungs- und Futtermittel. Sie wachsen besser in pflanzlichem Milieu (Gurkensaft) als in Bouillon. Das umgekehrte Verhalten zeigen die Acetylcholin-negativen Enterokokken. Sie finden sich vorzugsweise im Darm. An gedüngten Kulturpflanzen treten deshalb zunächst häufiger negative als positive Stämme auf. Bei der Ensilierung gewinnen aber die Acetylcholinbildner die Oberhand. Es wird vermutet, daß dabei ihr intensiveres Milchsäurebildungsvermögen eine ausschlaggebende Rolle spielt.

Für die praktische Arbeit des diagnostischen Laboratoriums kommt der Nachweis der Acetylcholinbildung nicht in Betracht, da er nur durch einen pharmakologischen Versuch geführt werden kann, z. B. am überlebenden Rattendarm. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Mikrobiologie der Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel.

Fink, H., Zur biologischen Eiweiß-Synthese. (Ztschr. f. angew. Chemie. Bd. 51. 1938. S. 475—481.)

Bei Hefen und anderen Mikroorganismen sind, je nach Umständen, die Gärung oder die Atmung als energieliefernde Vorgänge gekoppelt mit den energieverbrauchenden Vorgängen bei der Synthese neuer Zellsubstanz bei der Vermehrung. Findet man in der zugewachsenen Zellsubstanz besonderen Reichtum an hochwertigem Eiweiß, so pflegt man von biologischer Eiweiß-Synthese zu sprechen. Bei der alkoholischen Gärung durch lebende Hefe ist die Spaltung des Zuckers in Alkohol und Kohlensäure die Hauptreaktion, der Aufbau neuer Zellsubstanz eine Nebenreaktion. In dem gebildeten Alkohol findet man rund 97,5% des Energiegehaltes des Traubenzuckers wieder. Die Verhältnisse in bezug auf Alkohol und Zellsubstanzbildung werden grundsätzlich anders, wenn Sauerstoff bei der Gärung reichlich Zutritt hat, man erntet dann weniger Alkohol und mehr Hefe. Es gibt nun wilde Hefen, sog. Wuchshefen, die bei denkbar intensiver Sauerstoffzufuhr fast ausschließlich sich vermehren, so daß die biologische Stoffsynthese und damit besonders auch die Eiweißsynthese ganz und gar zur Hauptreaktion wird. Modellversuche mit reinem Zucker und Nährsalzen haben gezeigt, daß diese biologische Zellsubstanzsynthese zwar einen ungünstigeren Energieausnützungsgrad aufweist als der einfachere Vorgang der alkoholischen Zuckerspaltung. Dieser Nachteil wird aber dadurch ausgeglichen, daß die gebildete eiweißreiche Hefe ein höchstwertiges Eiweißkraftfuttermittel darstellt.

Die Anwendung der gewonnenen Erkenntnisse auf verschiedene Rohstoffe ergab, daß sich sowohl aus Holzzucker, als auch aus Sulfitablaugen eine eiweißreiche Futterhefe gewinnen läßt, worüber — wie auch über eine weitere technische Variante der biologischen Eiweißsynthese, das Eiweißschlempeverfahren — hier mehrfach berichtet worden ist. Alle diese Verfahren konnten erfolgreich in die Technik übertragen werden.

Wie neuere Untersuchungen gezeigt haben, kann die biologische Eiweißsynthese auch mit Nährsalzen und Kohlenstoffverbindungen, die im Vergleich zu den Kohlenhydraten als einfach zu bezeichnen sind, durchgeführt werden. Hierher gehören aus der Gruppe mit 2 C-Atomen: Azetaldehyd, Essigsäure, Alkohol; mit 3 C-Atomen: Brenztrauben-, Milchsäure, Glyzerin; mit 4 C-Atomen: Bernstein-, Fumarsäure u. a. Azetaldehyd, Essigsäure und Alkohol sind Kohlenstoffverbindungen, die heute schon in großtechnischem Maßstab aus Kohle gewonnen werden können. Kohlenhydrate als Erzeugnisse der Scholle werden damit vollwertig vertreten durch Stoffe, die der Retorte entsprungen sind. Damit ist die technisch-biologische Zellsynthese, besonders die für

uns so wichtige biologische Eiweißsynthese von der Scholle unabhängig gemacht und losgelöst worden. Auch hier ist kein organischer Stickstoff notwendig, man kann ausschließlich mit Ammoniak und anorganischen Salzen arbeiten. Die Ausgangsmaterialien für diese Erzeugung von vollwertigem biologischen Eiweiß sind damit letzten Endes die Kohle, der Stickstoff der Luft, Düngesalze und Wasser. Eine Wirtschaftlichkeit des aus Kohlenhydraten erzeugten Eiweißes im Vergleich zu dem billigen Weltmarkteiweiß dürfte sich allerdings zunächst nur schwer erreichen lassen.

Heuß (Berlin).

Müller-Claus, G., Der Wärmegang in Wurstwaren beim Räuchern und Brühen und deren Einfluß auf die Bakterienflora im allgemeinen und einige pathogene Keime insbesondere. (Arch. f. Hyg. u. Bakt. Bd. 120. 1938. S. 1—22.)

In Mettwurst wurden, nach 4—6tägiger Vortrocknung, Bact. coli, typhi und paratyphi sowie hämolytische Streptokokken nach 10tägigem Räuchern noch nicht abgetötet, sondern erst nach 13 Tagen.

Das Brühen (90 Min. bei 86°) bewirkte in Leberwurst einen Keimrückgang um 99,97%, von 3 300 000 auf 1000 im Gramm. Die Keimzahl stieg erst nach 6tägiger Aufbewahrung der Wurst (im Eisschrank wie auch bei Zimmertemperatur) nach vorübergehendem weiteren Abfall wieder an. Zu Jagdwurst zugesetzte pathogene asporogene Bakterien wurden durch 30 Min. langes Brühen bei 80° abgetötet. In Schwartemagen dagegen überstanden Diphtheriebakterien sowohl das Brühen (70 Min. bei 85°) als auch das folgende 24stündige Räuchern. Typhus- und Paratyphusbakterien sowie Streptokokken wurden schon durch das Brühen vernichtet.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Kathe, Lebensmittelinfektionen durch besondere Erreger. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 140. H. 3/8. 1937. S. 71—74.)

Bericht über 3 enteritische Massenerkrankungen, die in der Zeit von April 1936 bis Juli 1937 nach Genuß von Quarg auftraten und durch Coli verursacht wurden. Im ersten Fall handelte es sich um über 125 leichte Erkrankungsfälle in Brieg. Die 2. Epidemie ereignete sich in einem schlesischen Landstädtchen. Die Erkrankungen waren zum Teil ziemlich schwerer Art, ihre Dauer jedoch stets sehr kurz. Dasselbe war bei der 3. Epidemie der Fall, bei der eine Gruppe von 60 Jungen erkrankte. Der als Erreger in Frage kommende Coli fand sich — soweit verdächtige Quargproben noch zu erhalten gewesen waren — massenhaft im Quarg. Es waren hämolytische Stämme, die von dem Patientenserum bis zur Verdünnung 1 : 1600 agglutiniert wurden. Mäuse gingen nach Verfütterung des Quarges innerhalb von 4—8 Tagen ein. Der Sektionsbefund glich dem bei der Breslauinfektion (Milzschwellung); Blut und Organe enthielten Bact. coli haemolyticum. Nach der Einteilung von Nissle lag Typ III vor, der zu den Dysbakterien gerechnet wird. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Hartelius, V., Der Einfluß der Bios-Wuchsstoffe und der Stoffwechselprodukte der Hefe auf Stickstoffaufnahme und -ausscheidung der Hefe. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 55. 1938. S. 177—184.)

Es wurde untersucht, wie die Stickstoffaufnahme und -ausscheidung (Proteolyse) der Hefe, berechnet je Tag von je 100 mg Hefetrockensubstanz, während des Wachstums von dem Gehalt der Bioswuchsstoffe in der Nährlösung abhängig sind. Die Aufnahme war, wie sich zeigte, nur in geringem

Maße von den Wuchsstoffkonzentrationen abhängig, während die Ausscheidung stark mit abnehmender Wuchsstoffkonzentration stieg. Man erhielt gleiche Ausschläge für die Ausscheidung, ganz gleich, ob man den Wuchsstoff durch Würzezusatz zur Nährlösung oder durch Impfen mit wuchsstoffreicher Hefe zugab. Die früheren Angaben von Nielsen und Hartelius, daß die Stickstoffaufnahme und -ausscheidung in den Perioden, wo die Hefe ein lebhaftes Wachstum entwickelt, am kräftigsten ist, wurde bestätigt. Das Verhältnis zwischen der Größe der Oberfläche und der Höhe der Schicht im Gefäß, in dem die Hefe gezüchtet wurde, hatte keinen Einfluß auf die Stickstoffaufnahme. Dagegen war ein schwacher Einfluß auf die Stickstoffausscheidung zu beobachten. Der Grund dafür, daß die Stickstoffausscheidung der Hefe zurückgeht, wenn das Wachstum der Hefe schwächer wird, ist zum Teil darin zu suchen, daß in der Hefe bei schwächer werdendem Wachstum alte, nicht wachsende Zellen mehr und mehr überwiegen. Da das Stagnieren des Hefewachstums im wesentlichen durch die Verschiebung des p_H der Nährlösung nach der sauren Seite hin verschuldet wird, eine Folge der durch die Hefe verursachten Anreicherung von Säure in der Nährlösung, ist der eigentliche Grund für den Rückgang der Stickstoffausscheidung also diese Ansammlung von Säure. Zusatz von Säure zur Nährlösung führt in Übereinstimmung hiermit zu einer Verminderung der Stickstoffausscheidung der Hefe. Dagegen wirkt der entstehende Alkohol auf die Stickstoffausscheidung schwach fördernd. Heuß (Berlin).

Ritter, H. und **Nothdorff, G.**, Serologische Milchuntersuchungen im Rahmen des Tuberkulosebekämpfungsverfahrens aus den Jahren 1933—1936. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 141. 1938. S. 171—185.)

Die serologische Untersuchung von fast 20 000 Milchproben hat gezeigt, daß die Methode der Komplementablenkung zur Erkennung der Eutertuberkulose nicht nur geeignet, sondern ein unentbehrliches diagnostisches Hilfsmittel darstellt. Es wurden in durchschnittlich 4% aller Einzelmilchproben von klinisch unverdächtigen und in durchschnittlich 11% aller Einzelmilchproben von klinisch verdächtigen Kühen spezifische Rezeptoren ermittelt. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Schmakowa, N. P., Über die Anwendung des Stroms mit ultrakurzen Wellen zur Milchpasteurisierung. (Milch- und Butterindustrie. Bd. 6. 1937. S. 12—14.) [Russisch.]

Bei der Anwendung des Stroms mit ultrakurzen Wellen erwärmt sich die Milch sehr schnell (zur Erhitzung einer Milchprobe von 1½ Liter auf 95° C benötigt man nur 9—12 Sek.). Die mit dem Strom pasteurisierte Milch behält völlig den Geruch und Geschmack der Rohmilch bei, nur die auf 100° C erhitzte Milch weist einen schwachen Beigeschmack der Pasteurisierung auf. Die Entkeimung der Milch ist eine befriedigende: die Keimzahl veränderte sich nach 12—30 Sek. Erhitzung auf 95—100° C von 400—8 000/1 cm^3. Milch auf 0—500. Eine absolute Sterilität der Milch wird aber erst bei einer Temperatur von 125—135° C erreicht. M. Gordienko (Berlin).

Helm, R., Versuche mit dem Melkgleitmittel Weidnerit-Gel zur Verhütung der Weiterverbreitung des gelben Galtes. (Arbeiten a. d. Reichsgesundheitsamte. Bd. 72. 1938. S. 383—393.)

Durch die Anwendung von Weidnerit-Gel gelang es nicht, die Ausbreitung des gelben Galtes in einer stark verseuchten Herde zu verhindern. Trotz seiner regelmäßigen Anwendung traten immer neue Infektionen auf. Allerdings unterblieben andere Verhütungsmaßnahmen, wie Trennung der gesunden und kranken Tiere. Deshalb wird dem Melkfett auch nicht jede Wirkung abgesprochen. Eine gewisse Bakterizidie gerade des Weidnerit-Gels ist schon deshalb zu erwarten, weil es, im Gegensatz zu den bisher gebräuchlichen Melkfetten, wasserlöslich ist. Es wirkt also unbedingt einer Verschmutzung des Euters entgegen.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Ritter, P., Beiträge zur Frage der nachträglichen Blähung von Alptalkäsen. (Schweiz. Milchztg. Bd. 64. 1938. S. 179, 181.)

Während Buttersäurebazillen-Trieb des Emmentaler Käses in Talkäsereien so gut wie ausschließlich durch Gärfutter verursacht wird, kommt bei Alpkäse als Infektionsquelle die Erde in den Alpställen und ihrer Umgebung in Frage. Die quantitativen Untersuchungen auf Buttersäurebazillen in der Erde in der Umgebung der Hütte, bei den Schweinetrögen und im Innern der Hütte bei 5 verschiedenen Walliser Alpen hatte folgendes Ergebnis:

	Buttersäurebazillengehalt in 1 g Erde		
	in der Umgebung der Hütte	bei den Schweinetrögen	aus dem Innern der Hütte
1. Alp Chermontanaz . .	40 000	40 000	9 000
2. „ Gr. Chermontanaz .	900[1])	1 000[1])	40 000
3. „ Marlenaz	5 000	70 000	400 000
4. „ Grand Plan. . . .	10 000	50 000	60 000
5. „ La Pairraire[2]). . .	3 000	2 000	2 000

[1]) Erde frisch aufgefahren.

[2]) Kontrollsennerei, die — im Gegensatz zu den 4 anderen — Stallungen besaß; Käse ohne Trieb.

Zum Vergleich wird angeführt, daß von Düggeli auf ungedüngten Alpweiden je Gramm Erde im Durchschnitt 100, im Maximum 1000 Buttersäurebazillen gefunden wurden. Die hohen Zahlen in der Erde aus dem Innern der Hütte erklären sich daraus, daß der Fußboden ohne Belag ist und ständig mit Molke durchtränkt wird. Da die Melk- und Käsereigeräte gewöhnlich auf den Boden abgestellt werden (Gestelle fehlen), ist eine direkte Infektion mit Erde unumgänglich. Dazu kommt die Infektion beim Melken. Dieses wird zwar nur ausnahmsweise in der Sennerei vorgenommen, doch kommen die Tiere zur Melkzeit ziemlich nahe zu den Hütten, wo sie sich oft niederlegen und mit der buttersäurebazillenreichen Erde beschmutzen. Als Maßnahmen zur Verhütung des Buttersäurebazillentriebes in den Alpbetrieben ergeben sich demnach: Anlage von Steinpflaster und Wasserabläufen, Sauberhalten des Lagers der Tiere (durch tägliches Fegen und Spülen; Streu steht nur ganz ausnahmsweise zur Verfügung) sowie unter Umständen Befeuchten der Euter und ihrer Umgebung unmittelbar vor dem Melken, um Staubabfall zu verhindern (das Befeuchten muß sehr sorgfältig erfolgen, vor allem in nicht zu starkem Maße; da es möglicherweise Erkältungen zur Folge haben kann, ist es nur in den Fällen anzuwenden, wo die vorher genannten Reinlichkeitsmaßnahmen noch nicht zu dem gewünschten Erfolg geführt haben). — Noch ungeklärt ist die Frage, warum Buttersäurebazillen-Trieb nicht in allen Sennereien auftritt, deren Umgebung schlammig ist. Wie es scheint, sind nicht alle Erden von der Umgebung der Alpenhütten gefährlich. — In einem Falle konnte das Käsereiwasser als Ursache von Spättrieb festgestellt werden. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Prica, M., Über die bakterizide Wirkung des Naturhonigs. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 120. 1938. S. 437—443.)

Durch Plattengußkulturen und durch Versuche mit weißen Mäusen wurde in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Dold und seinen Mitarbeitern nachgewiesen, daß Naturhonig verschiedener Herkunft bis zu einer Verdünnung von 1 : 5 stark bakterizid wirkt, und zwar sowohl auf die grampositiven als auch auf die gramnegativen Bakterien. Die von Dold als Inhibine bezeichneten bakteriziden Stoffe werden als Sekretionsprodukte der Bienen bzw. der Blüten aufgefaßt.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Tchélistcheff, A., La microflora des vins et la fermentation mannitique. (Revue de Viticulture. Vol. 88. 1938. p. 213—221.)

Im Anschluß an verschiedene Untersuchungen über Weinbakterien hat Debordes gezeigt, daß an der Mannitgärung des Weines eine ganze Anzahl schiedener Bakterienarten beteiligt sind. An diese Arbeiten knüpfen nun des Verf. Untersuchungen an. Die Mannit bildenden Bakterien werden darin nach Charaktereigenschaft, Gestalt, chemischer Tätigkeit und sonstigen Eigenschaften genau beschrieben. Die reiche Flora der Mannitgärung läßt sich nach biochemischen und physikomechanischen Gesichtspunkten unterscheiden. In welcher Weise das möglich ist wird gezeigt. Beispiele aus der Praxis behandeln Übergänge von der Mannitgärung zur Milchsäuregärung der Weine, die je nach den Entwickelungsbedingungen für die betr. Bakterien auftreten. K. Müller (Freiburg i. Br.).

A. Sch., Der Matzka-Prozeß in seiner Anwendung zur Sterilisierung von Fruchtsäften. (Chemiker-Zeitg. Bd. 62. 1938. S. 604.)

Das Verfahren gründet sich auf die oligodynamische Aktion, deren Wirkung durch Erwärmung der Fruchtsäfte verstärkt wird. Die zu sterilisierenden Säfte werden zwischen zwei gegeneinander isolierten, erwärmten Metallflächen, durchgeführt. Die eine besteht aus Silber, die andere aus nicht korossivem Metall. Im praktischen Betrieb beträgt die gelöste Silbermenge weniger als ein Teil auf 100 Mill. Teile Fruchtmasse. Trotz dieser minimalen Konzentration wirken Millionen von Silberionen auf die Bakterien ein. Die Temperaturen sind mit 50—60° C so gewählt, daß sie weder den Geschmack der Fruchtsäfte beeinträchtigen, noch die Vitamine zerstören. Heuß (Berlin).

Silbereisen, K., Zur Schnellbestimmung der Endvergärung im Bier. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 55. 1938. S. 217—221.)

Zur Bestimmung der Endvergärung werden 200 ccm Bier mit 32 g frischer, auf der Nutsche abgepreßter Betriebshefe versetzt und im Maischbecher bei 20° C zwei Stunden lang gerührt. Der Becherinhalt wird durch ein Faltenfilter Schleicher und Schüll, Nr. 588, 32 cm Durchmesser, filtriert und der Extrakt sacharometrisch oder pyknometrisch ermittelt.

Heuß (Berlin).

Netz, H., Magnesiumlegierungen in Brauereien. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Bd. 61. 1938. S. 45—46.)

Magnesiumlegierungen können aus rein deutschen Rohstoffen gewonnen werden; es wurden daher zwei dieser Legierungen der I. G. Farben, bezeichnet mit AZM bzw. AM 503 darauf geprüft, ob sie in der Brauerei Verwendung finden können. Der Befund fiel durchaus negativ aus, das Material ist un-

beständig gegen Wasser, Würze, Bier, Sole und Gärkellerluft. Auch Desinfektionsmittel saurer und alkalischer Natur wirken angreifend, lediglich gegen Formaldehyd waren die untersuchten Legierungen widerstandsfähig.

Heuß (Berlin).

Sadasivan, V. und **Sreenivasan, A.**, Die Anwendung der Kjeldahl-Methode für Untersuchungen über die Bindung von Stickstoff durch Samen von Leguminosen während der Keimung. (Biochem. Ztschr. Bd. 296. 1938. S. 434—442.)

Beim Aufschluß von Hülsenfrüchten nach der Kjeldahlmethode werden genaue, übereinstimmende Werte nur dann erhalten, wenn nach dem Klarwerden des Aufschlusses noch 20—30 Minuten weiter erhitzt wird. Dagegen wird der Vorgang des Aufschließens wesentlich beschleunigt und ist ein weiteres Erhitzen nach der Klärung nicht erforderlich, wenn das zu analysierende Material zuvor angefeuchtet wird. So kommt es, daß gekeimte Hülsenfrüchte schneller aufgeschlossen werden und der Aufschluß schon bei der Klärung vollständig beendet ist. Es konnte bewiesen werden, daß die zu niedrig liegenden Stickstoffwerte dadurch zustande kommen, daß durch die bleichende Wirkung des Schwefeldioxyds auf unaufgeschlossene organische Substanz ein vollständiger Aufschluß vorgetäuscht wird. Bei Anfeuchtung des Materials werden dagegen die widerstandsfähigen Stickstoffverbindungen leicht zerstört. Dennoch wurden bei Erbsen auch nach vollständigem Aufschluß für gekeimte Samen höhere Werte erhalten als für ungekeimte. Verff. glauben hiermit endgültig den Beweis geliefert zu haben, daß in diesem Falle eine Assimilation von gasförmigem Sticksoff stattgefunden hat.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Rjumin, N. I., „Nitragin" aus der Wurzelmasse der Lupine und des Klees. (Lein und Hanf. Bd. 1. 1938. S. 57—58.) [Russisch.]

Die im Herbst gesammelten und von der Erde gereinigten Lupinen- und Kleewurzeln wurden bei einer Temperatur von 20—25° C getrocknet, danach fein gemahlen. 1 g Pulver enthielt rund 19 Millionen Bakterien. Laboratoriumsversuche mit dem auf die beschriebene Art gewonnenem „Nitragin" ergaben eine 20-proz. Erhöhung der Lupinenerträge (Lupinus polyphyllus).

M. Gordienko (Berlin).

Mikrobiologie des Düngers, Bodens, Wassers und Abwassers.

Cayley, Dorothy, M., Experimental spawn and mushroom culture. II. Artificial composts. (Ann. Appl. Biol. Vol. 25. 1938. p. 322—340.)

In Fortführung ihrer Untersuchungen über die Kultivierung des Champignon berichtet Verf.n über die Herstellung und Brauchbarkeit verschiedener künstlich gewonnener Komposte aus pflanzlichen Materialien, die im wesentlichen die Nahrung des Pferdes darstellen. Die Methoden zur Gewinnung dieser Komposte sind ausführlich beschrieben. Als wichtigstes Ergebnis der in großen Töpfen und Kästen angesetzten Versuche wird herausgestellt, daß eine hohe Temperatur in den Haufen zu Beginn der Kompostierung für die Kultivierung des Champignon nicht unbedingt erforderlich ist. Immerhin wurden hiermit die besten Ergebnisse erzielt, vor allem mit den Proben, die außerdem mit Kalk und Erde gemischt worden waren. Über die möglichen

Ursachen des günstigen Einflußes eines Erdzusatzes werden ausführliche theoretische Erwägungen angestellt. Bortels (Berlin-Dahlem.)

Fehér, D. und Frank, M., Untersuchung über den Einfluß der Temperatur und des Wassergehaltes auf die Tätigkeit der Mikroorganismen des Bodens. II. Mitt. Die Bestätigung der experimentell abgeleiteten Gesetzmäßigkeiten durch Untersuchung der Wald- und Ackerböden und ihre Übertragung auf den Wärme- und Wasserhaushalt der höheren Pflanzen. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 9. 1938. S. 193—222.)

Experimentell hatten die Verff. das R-Gesetz abgeleitet, wonach die Entwicklung der Mikroorganismen im Boden dem Produkt aus Wärme und Feuchtigkeit (R) parallel gehen. Langjährige Beobachtungen der Böden im Freien auf Zahl und Tätigkeit der Mikroorganismen, Temperatur, Feuchtigkeit usw. bestätigten diese Abhängigkeit, die auch auf den Wärme- und Wasserhaushalt der höheren Pflanzen übertragen wird. In diesem Sinne ist denn auch der früher von den Verff. aufgestellte Begriff des biologischen Aktivitätsgrades des Bodens zu erweitern. Für die Behandlung dieser Fragen werden ausführliche mathematische Funktionen ermittelt.

Rippel (Göttingen).

Castellani, E., Le métabolisme de l'urée dans ses rapports avec la dynamique du sol. (Note préliminaire.) (Soc. Intern. di Microbiol. Boll. della Sez. Ital. Vol. 9. 1937. p. 116—120.)

Förderung der Mikroorganismentätigkeit im Boden durch Düngung desselben mit Glukose hat eine Erhöhung des Vorrates an austauschbarem und wasserlöslichem Kalzium zur Folge, während Harnstoffdüngung umgekehrt eine Verminderung dieses den höheren Pflanzen verfügbaren Kalziums bewirkt. Das beim mikrobiellen Abbau des Harnstoffs entstehende Ammonium-Ion verdrängt das Kalzium aus den Oberflächen der Bodenkolloide, das dann durch die gleichfalls aus dem Harnstoff entstandene Kohlensäure gefällt wird. Dieser Ionenaustausch hat aber auch eine wesentliche Änderung des physikalischen Zustandes des Bodens zur Folge, insofern als das Porenvolumen verringert und die Wasserführung stark beeinträchtigt wird.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Castellani, E., A propos de la mise en liberté, par activité microbiologique du phosphore lié au complexe colloidal du sol. (Note préliminaire.) (Soc. Intern. di Microbiol. Boll. della Sez. Ital. Vol. 9. 1937. p. 120—123.)

Ein Teil des im Boden festgelegten Phosphors ist bei gleichzeitiger sekundärer Bindung an Kalzium mit diesem zusammen an den Oberflächen der Bodenkolloide sorbiert. Die Annahme, daß bei der Verdrängung des Kalziums durch einwertige Ionen auch der sorbierte Phosphor in Lösung gehen muß, wurde experimentell bestätigt. Nach Düngung eines Bodens mit Harnstoff wurde durch das entstehende Ammoniak nicht nur das Kalzium aus den Oberflächen verdrängt und dann durch die Kohlensäure gefällt, sondern auch der Gehalt der Bodenlösung an Phosphor stieg beträchtlich an. Der Anlaß zu dieser Austauschreaktion ist in der dissimilatorischen Tätigkeit der Mikroorganismen des Bodens zu erblicken, die auf diese Weise mittelbar in den Kreislauf des Phosphors eingreifen. Bortels (Berlin-Dahlem).

Gundel, M. und **Stundl, K.**, Feststellungen an Wasserwerken mit stark verunreinigtem Rohwasser. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 120. 1938. S. 633—639.)

Wenn es auch gelingt, durch Fällung, Chlorung und sonstige Behandlungsverfahren aus einem chemisch und bakteriell stark verunreinigten Rohwasser ein in jeder Beziehung einwandfreies Trinkwasser herzustellen, so sollte hiervon nur in Ausnahmefällen Gebrauch gemacht werden. Einerseits droht ständig die Gefahr des Versagens der Reinigungsanlage und andererseits entspricht ein solches Wasser nicht den ästhetischen Forderungen. Das Bestreben sollte stets auf die Gewinnung eines primär einwandfreien Wassers gerichtet sein. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Kuznetzow, S. I., Die quantitative Bestimmung der Mikroflora im Zusammenhang mit „mikrozonalen" Daten des Seeschlammes. (Mikrobiologie. Bd. 7. Folge 1. 1938. S. 36—39.) [Russisch.]

Die Untersuchung zeigte, daß die Verteilung der Mikroorganismen im Schlamm des Gab-Sees in einem Zusammenhang mit seinen „mikrozonalen" Daten steht, d. h. mit dem Oxydationspotential, Säuregrad, Gehalt an organischen Stoffen usw. in den einzelnen Schlammschichten. Am reichsten an Mikroflora ist die obere „Mikrozone" (38 Milliarden l/g Trockensubstanz), in den unteren Zonen fällt aber die Bakterienzahl sehr rasch ab. Hier gehen anaerobe Reduktionsprozesse unter Bildung von geringen H_2S-Mengen vor sich, was in der oberen Zone die Entwicklung von Chromatium ermöglicht. Die intensiv verlaufenden Mineralisierungsprozesse der organischen Stoffe setzen das Oxydationspotential schon hier etwas herab und mit jeder tieferen Zone sinkt dieses in noch stärkerem Grade. Die obere Zone zeichnet sich an den Stellen, wo Heilschlamm lagert, durch besonders hohen Gehalt an organischen Stoffen aus. Auf Grund der Analysen der organischen Stoffe des Schlammes soll der Gab-See dem oligotrophen Seetyp angehören. M. Gordienko (Berlin).

Schädigungen der Pflanzen durch Pilze, Bakterien und filtrierbare Vira.

Hampp, H. und **Jehl, J.**, Zwei neue Methoden zur Prüfung der pilztötenden Wirkung der Hopfenperonospora-Bekämpfungsmittel. (Phytopathol. Ztschr. Bd. 10. 1937. S. 223—229.)

Zur Vorprüfung der Wirksamkeit von chemischen Mitteln gegen Pseudoperonospora humuli empfehlen die Verff. zwei neue Verfahren, von denen das eine in der Auftragung einer Zoosporenaufschwemmung auf Blättern besteht, die Freilandspritzversuchen entnommen sind und auf denen die Bewegungsfähigkeit der Zoosporen nach gewissen Zeiträumen untersucht wird. In dem anderen Fall werden junge Stecklinge künstlich infiziert und anschließend mit den zu prüfenden Mitteln bespritzt. Verff. betonen, daß die Verfahren nicht zur endgültigen Beurteilung der Brauchbarkeit eines Mittels genügen, vielmehr hierüber nur der Freilandversuch Ausschlag geben kann. Braun (Berlin-Dahlem).

Small, T., The relation between potato blight and tomato blight. (Ann. Appl. Biol. Vol. 25. 1938. p. 271—276.)

In Jersey werden häufig Tomaten und Kartoffeln in unmittelbarer Nachbarschaft angebaut, und es kommt vor, daß zunächst die Kartoffeln

und dann auch die Tomaten von Phytophthora befallen werden. Deshalb ist in Praktikerkreisen die Ansicht verbreitet, daß die Krankheit von den Kartoffeln auf die Tomaten übertragen wird. Um die Richtigkeit dieser Ansicht zu prüfen, wurden künstliche Überkreuzimpfungen durchgeführt. Impfversuche in der Zeit von Januar bis März ergaben, daß im Gewächshaus angezogene Tomatenpflanzen mit Krautfäule von Gewächshauskartoffeln infiziert werden können und schwer erkranken. Dagegen verliefen Übertragungen der Krankheit von Freiland-Frühkartoffeln auf Tomaten meist negativ. Wenn überhaupt eine Infektion der Tomaten stattfand, so blieb sie doch ohne sichtbare Folgen. Es wird deshalb angenommen, daß befallene Frühkartoffeln keine ernste Gefahr für benachbarte Tomaten darstellen. Im Herbst vorgenommene Übertragungen der Krankheit von Kartoffeln auf Tomaten waren immer erfolgreich. Jedoch entwickelten sich auf letzteren keine typischen Faulstellen. Wurde dagegen der Pilz von Tomaten auf Kartoffeln übertragen, so erkrankten diese immer, und auch die Rückimpfung von den befallenen Kartoffelstauden auf Tomaten gelang dann leicht. Hieraus wird geschlossen, daß phytophtorakranke Tomaten für benachbarte Kartoffelfelder gefährlich werden können. Die Versuche zeigen außerdem, daß in der geschilderten Gegend mehrere Stämme von Phytophthora infestans vorkommen.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Itzerott, D., Über Keimung und Wachstum von Ustilago zeae (Beckm.) Ung., mit besonderer Berücksichtigung der Infektion. (Phytopathol. Ztschr. Bd. 11. 1938. S. 155—180.)

Es wird zunächst über Keimung und Wachstum von Ustilago zeae in Kulturlösungen berichtet. Bei p_H unter 2,5 hört jegliche Keimung auf, bei abnehmender H-Ionenkonzentration dagegen spielt das physiologische Alter der Sporen eine Rolle, indem dort nur Sporen höheren Alters geschädigt werden. Für die Sporidienkeimung gelten im wesentlichen die gleichen Beziehungen, nur liegt die Grenze bereits bei etwa 2,8. Zusätze von Arsen, Kupfer und Quecksilber wirken in absteigender Reihenfolge schädigend. Starke Temperaturschwankungen können sich ebenfalls hemmend auswirken, jedoch nur in stark saurem Medium. Die Übereinstimmung zwischen dem p_H-Bereich geringsten Wachstums und dem Umschlagsgebiet der Speicherung saurer und basischer Farbstoffe legt die Vermutung nahe, daß der isoelektrische Punkt des Zellinnern der Sporidien zwischen 2,5 und 3,3 liegt, ohne daß aber die Beziehungen zwischen ihm und der Infektionsfähigkeit der Sporidien schon genauer untersucht worden sind. Aus Untersuchungen über Infektion und Pilzwachstum in der Pflanze zieht die Verf.n den nicht überzeugenden Schluß, daß der Bodeninfektion sicherlich nur eine kleine Rolle zukommt, von der sie dann gleichzeitig sagt, daß sie in ihrer Wirkung bis jetzt noch wenig bekannt sei. Warum man zu diesem Schluß auch schon durch die Tatsache kommen soll, daß das Maissaatgut nicht gebeizt zu werden braucht, ist ebensowenig verständlich. Es wird ja gerade betont, daß der Pilz in fast allen Fällen in die Pflanze einzudringen vermag; nur führt dieser Befall nur in geringem Ausmaß zur vollen Entwicklung des Pilzes. Die bisher gebräuchlichen Infektionsmethoden (Injektions- und Eintropfmethode) führten zu keinem befriedigenden Ergebnis. Abschließend wird das Wachstum des Pilzes in der Pflanze diskutiert. Verf.n bestätigt, daß sich die Infektion von Ustilago zeae rein lokal auswirkt. Sie vermutet, daß

die H-Ionen-Konzentration in der Pflanze für das Wachstum des Pilzes neben zahlreichen anderen Faktoren eine Rolle spielt.

Braun (Berlin-Dahlem).

Schiehuber, A. M., Studies in the effect of bunt, Tilletia tritici and Tilletia levis, on wheat. (Phytopathol. Ztschr. Bd. 10. 1937. S. 614—632.)

Verf. hat den Einfluß der Infektion mit verschiedenen Rassen von Tilletia tritici auf Frosthärte, Entwicklungsgeschwindigkeit und Sterilität von mehr oder weniger brandresistenten Weizensorten untersucht. Oro C. I. 8220, Ridit C. I. 6703 und Heils Dickkopf, infiziert mit den Rassen A, E und G, zeigten durchweg etwas stärkere Frostschäden bei den infizierten Pflanzen, ohne daß die Unterschiede freilich immer fehlerkritisch gesichert waren. Am größten war der Unterschied bei der Sorte Oro bei Infektion mit den Rassen E und G, gegen die sie resistent ist. Infektion der Sorte Turkey Florence und White Odessa mit den Biotypen Ft—4, Ridit tritici und einem Gemisch von beiden ergab deutlich gesteigertes Längenwachstum des ersten Blattes bei Infektion der ersten Sorte mit Ft—4, gegen die sie hoch resistent ist, und anfangs gehemmtes, später gesteigertes Wachstum bei Infektion mit dem Gemisch, dagegen geringen Einfluß nach Infektion mit Ridit tritici, gegen die sie ebenso anfällig ist wie White Odessa. Bei dieser Sorte war meist eine Hemmung der Blattentwicklung zu beobachten. Die Entwicklung des zweiten Blattes ergab wieder ganz andere Ergebnisse. Messungen des dritten Blattes und Trockengewichtsbestimmungen bestätigen, daß die hemmende oder fördernde Wirkung der Brandinfektion von der Weizensorte, dem Brandbiotyp und dem Entwicklungszustand der Pflanze abhängen. Schließlich wird über das Auftreten von tauben Blüten als charakteristischer Erscheinung nach Befall von Turkey Florence durch Ft—4 berichtet, während White Odessa normale Brandbutten ausbildet.

Braun (Berlin-Dahlem).

Leitzke, B., Infektionsversuche mit Haferflugbrandsporen-Gemischen. (Phytopathol. Ztschr. Bd. 10. 1937. S. 504 bis 553.)

Auf Grund der Untersuchungen früherer Jahre, nach denen bei Kreuzungen von Sporen aus verschiedenen Flugbrandherkünften Neukombinationen mit einem neuen spezifischen Befallsbild auftreten, ist man bei der Immunitätszüchtung dazu übergegangen, Zuchtstämme zwecks Prüfung ihrer Resistenz mit einem Gemisch von Herkünften zu infizieren. Dabei hat sich aber herausgestellt, daß Herkünfte im Gemisch auf den infizierten Sorten und Stämmen geringeren Befall hervorrufen können, als wenn mit ihnen einzeln infiziert wird. Den Ursachen dieser Erscheinung ist Verf. nachgegangen, nachdem er sie selbst noch einmal eingehend experimentell belegt hat. Der größte Teil der Befallsminderungen erfolgte bei Infektion mit den Nachkommenschaften der Gemische. Dabei waren die Befallsminderungen z. T. erheblich, in einigen Fällen ging der Befall fast vollständig verloren. Die Befallsänderungen verliefen in bezug auf die einzelnen Sorten — insgesamt sind 10 Sorten und 6 Brandherkünfte benutzt worden — nicht gleichmäßig, vielmehr zeigte jede Sorte ein besonderes Befallsbild. Eine gewisse Regelmäßigkeit der Befallsveränderung war nur insofern zu erkennen, als einzelne Herkünfte nach der einen oder anderen Richtung besonders hervortraten. Für einen Teil der Befallsminderungen konnte die Auslesewirkung der Vermehrungssorte als Ursache erkannt werden. Weitere mögliche Ursachen führt

Verf. an, muß aber ihre hypothetische Natur selbst zugeben. So werden unterschiedliche Anzahl der Sporen der miteinander gemischten Herkünfte genannt, weiter unterschiedliche Keimfähigkeit, unterschiedliche Schnelligkeit der Sporidienabschnürung, der Sporidienkopulation und des Myzelwachstums und schließlich die Vererbungsweise der Aggressivität und die Entstehung neuer Formen. An Hand von Wuchsbildern monosporidialer Linien, die aus den ursprünglichen 6 Herkünften isoliert wurden, konnte geschlossen werden, daß bereits letztere ein Gemisch physiologisch verschiedener Formen darstellen und die Mehrzahl ihrer Sporen heterozygot ist, vorausgesetzt, daß man das Wuchsverhalten von Parasiten auf Kulturen als Maßstab für ihren genetischen Aufbau nehmen kann. Aus den Untersuchungen wird für die praktische Immunitätszüchtung der Schluß gezogen, daß Haferpopulationen mit Herkunftsgemischen zu infizieren sind. Die aus diesen Populationen ausgelesenen Stämme sind durch Einzelinfektion mit den hochaggressiven Herkünften zu prüfen, und die dabei durchweg immun befundenen abschließend nochmals mit einem hochaggressiven Gemisch zu infizieren. Besondere Sorgfalt ist auch der Vermehrung des Flugbrandes zu widmen, für die noch besondere Weisungen gegeben werden. Schließlich wird noch über das Ergebnis einer Prüfung eines Testsortiments von 14 Sorten mit 35 neu gesammelten Herkünften und über das Verhalten von 18 bisher nicht geprüften Sorten berichtet. Braun (Berlin-Dahlem).

Hynes, H. J., Studies on Rhizoctonia root-rot of wheat and oats. (New South Wales Sci. Bul. Nr. 58. 1937. 42 S.)

Verf. beschreibt die an Weizen und Hafer durch Rhizoctonia solani verursachten Krankheitserscheinungen, die zu Ertragsverlusten bis zu 35% führen sollen. Die Krankheit entwickelt sich in den Wintermonaten, die befallenen Pflanzen können sich später bei warmer Witterung wieder erholen, was beim Hafer viel stärker in die Erscheinung tritt als beim Weizen. Die Herkünfte von den beiden Getreidearten verhielten sich hinsichtlich ihrer Temperaturansprüche, ihrer Wachstumsgeschwindigkeit und ihrer Aggressivität verschieden, wie sie sich auch von den Herkünften von Kartoffel und Bohne unterschieden. Sklerotien bildeten sie nicht. Zusatz von Ammoniumsulfat zu Reinkulturen setzte das Wachstum stark herab. Wechselseitige Infektionen mit Herkünften von Getreide und Kartoffel riefen Befall an Weizen, Hafer, Gerste, Roggen und Kartoffeln hervor. Feld- und Gewächshausversuche zeigten Begünstigung des Befalls durch niedrige Temperaturen und auf kalkarmem Boden. Die befallsmindernde Wirkung von Ammoniumsulfat konnte bestätigt werden. Braun (Berlin-Dahlem).

Went, J. C., Compilation of the investigation on the susceptibility of different elms to Ceratostomella ulmi Buisman in the Netherlands. (Phytopathol. Ztschr. Bd. 11. 1938. S. 181—201.)

Verf.n hat die Ergebnisse der holländischen Untersuchungen über die Widerstandsfähigkeit der Ulmen gegenüber Ceratostomella ulmi zusammengestellt. Die Infektionen sind durch Einspritzen einer Sporensuspension vorgenommen worden. Der beste Zeitpunkt ist die zweite Maihälfte bis Anfang August. Bei warmem, trockenem Wetter zeigt sich der Befall in etwa 10 Tagen. Eine graduelle Abstufung der Anfälligkeit begegnet großen Schwierigkeiten. Bemerkenswert ist die Tatsache, daß starkwüchsige Bäume

anfälliger sind als schwachwüchsige. Als sehr resistent erwiesen sich die beiden asiatischen Spezies Ulmus pumila und U. pumila pinnato ramosa, die aber hoch anfällig gegen Nectria sind. Eine ganze Reihe weiterer namentlich aufgeführter Ulmenarten asiatischer Herkunft sind ebenfalls mehr oder weniger resistent, können aber entweder nur für Anpflanzungen in Parks oder, weil sie nur wenig anfälliger als die holländische Ulme sind, überhaupt nicht empfohlen werden. Zu letzteren gehören auch eine Anzahl europäischer Ulmen. Im übrigen sind die meisten von diesen ebenso wie die amerikanischen hoch anfällig. Dagegen sind unter Sämlingen von europäischen Ulmen hochresistente gefunden worden, unter denen sich ein spanischer Sämling von U. foliaceae, der die Nr. 24 trägt und heute unter dem Namen Christine Buisman geht, besonders ausgezeichnet hat und gute Aussichten verspricht. Der Pilz vermag sich auch in resistenten Arten auszubreiten, aber eine Verfärbung zeigt sich in diesen nur auf einer kleinen Ausdehnung. Unterschiede im Wassertransport oder in der Transpiration zwischen resistenten und anfälligen Formen konnten nicht gefunden werden. Um die erkrankten Gefäße finden sich mit Stärke angereicherte parenchymatische Zellen; diese Stärkeanreicherung verschwindet im Frühjahr. Die erkrankten Gefäße zeigen Tyllen- und Gummibildung, die auch in geringerem Maße durch Injektion von Säuren hervorgerufen werden kann.

Braun (Berlin-Dahlem).

Luyk, A. van, Antagonism between various Microorganisms and different species of the Genus Pythium, parasitizing upon Grasses and Lucerne. [Antagonismus zwischen verschiedenen Mikroorganismen und einigen Arten der Gattung Pythium, parasitär auf Gräsern und Luzerne.] (Meded. Phyt. Lab. „Willie Commelin Scholten", Baarn, Deel 14. 1938. S. 43—83, mit 6 Taf.)

Bekanntlich erzielt man bei Infektionsversuchen in nicht-steriler Erde keine oder weniger gute Resultate wie in steriler Erde. Da dies zurückzuführen ist auf die Anwesenheit von anderen Parasiten, welche der Wirkung der eingeführten Parasiten entgegenzuwirken vermögen, hat Verf. es unternommen, die Beziehungen dieser beiden Gruppen von Organismen zueinander näher zu studieren.

Als Parasiten wurden folgende Pilze verwendet: Für Gräser: Pythium volutum Tr., P. de Baryanum Hesse, P. intermedium de Bary, P. irregulare Buism. und P. mamillatum Meurs. Für Luzerne: P. de Baryanum. Versuchsobjekte waren die Gräser: Lolium annuum var. westerwoldicum, Festuca duriuscula, Agrostis stolonifera. Als Antagonisten wurden genommen Phykomyzeten, welche als Parasiten auf Graswurzeln vorkommen, Pullularia pullulans und einige Pilze aus Erde isoliert. Die Versuche wurden sowohl mit Reinkulturen in Gläsern wie auch in Töpfen mit sterilisierter und nicht-sterilisierter Erde ausgeführt.

P. de Baryanum und P. volutum erwiesen sich als die stärksten Parasiten. Wurden z. B. 100 Grassamen in Röhrchen mit Erde und etwas Wasser mit P. volutum geimpft, so gelangten nur 45% zur Keimung. Wurden dagegen andere Pilze, wie P. irregulare, P. de Baryanum, P. torulosum, Mortierella spec., Pythium spec., zugefügt, so waren die Keimungszahlen bei Zufügung von 1—5 Pilzen in verschiedenen Kombinationen 53%, 67,3%, 71,7%, 78% resp. 78%. Der antagonistische Einfluß durch die Gegenwart anderer Pilze tritt hier also klar zutage. Aus weiteren ähnlichen Versuchen ging hervor, daß u. U. Parasiten stärkere Antagonisten sein können als Saprophyten.

Um die Frage zu lösen, ob die Zunahme des Antagonismus auf der Bildung von wachstumshemmenden Substanzen oder auf einer gegenseitigen Hemmung in der Entwicklung beruhe, wurden Versuche mit filtrierten Nährböden gemacht, worauf Pullularia pullulans während eines Monats bei verschiedenen Temperaturen gezüchtet worden war, wobei die auf diese Weise erhaltenen Flüssigkeiten in verschiedenen Verdünnungen den Kulturen von P. de Baryanum zugesetzt wurden. Es stellte

sich heraus, daß Pullularia pullulans wachstumshemmende lösliche Substanzen bildet, welche einen größeren toxischen Einfluß haben, je nachdem sie bei niederen Temperaturen gewonnen wurden. Auf 100° C erhitzt, erlischt die toxische Wirkung vollkommen. Dagegen enthalten die ausgelaugten Zellen des Pilzes eine wachstumsfördernde Substanz.

Es wurden dann noch mehrere Pilze auf ihre antagonistische Wirkung geprüft. Von diesen Pilzen erwies sich besonders Penicillium expansum (Lk.) Thom als stark hemmend. Gegen P. de Baryanum z. B. in Knopscher Lösung + 4% Saccharose geprüft war in den Kontrollröhren das Pythium nach 41 Tagen 52 und 53 mm gewachsen, dagegen bei Zufügung der metabolischen Flüssigkeit von Penicillium expansum in einer Verdünnung von 1 : 800: 10 mm, von 1 : 1600: 28 mm und von 1 : 3200: 39 mm. Sogar in einer Verdünnung von 1 : 5260 war noch ein geringer Einfluß bemerkbar. Statt Saccharose wurden auch andere Kohlehydrate einer Prüfung unterworfen. Die besten C-Quellen sind die Monosen und Biosen mit Ausnahme von Laktose.

Obige Versuche eröffnen die Möglichkeit, Pflanzenkrankheiten mittels Lösungen metabolischer Produkte anderer Pilze zu bekämpfen. Von größter Wichtigkeit sind dabei die Umstände, unter denen die Anwendung stattfindet. Die Bildung der toxischen Substanzen ist nämlich abhängig von mehreren Faktoren, u. a. von Temperatur, Feuchtigkeit, p_H und von der Anwesenheit und der Menge der C-Quellen und Verbindungen, woraus die Toxine ihren Ursprung nehmen. Auch das Alter der verwendeten Kulturen ist wichtig, da die Toxizität nach anfänglichem Anstieg im Laufe der Zeit wieder abnimmt. Gegenüber der Verwendung von Fungiziden besitzen die antagonistischen Lösungen den Vorteil, nur wenige Tage vor der Aussaat der Pflanzen verwendet werden zu müssen. Weitere Versuche werden jedoch Klarheit schaffen müssen über die vorteilhafteste Art ihrer Handhabung.

van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Loewel, E. L. und Friedrich, G., Fusikladiumbeobachtungen an eingetüteten Apfelzweigen während der Vegetationsperiode. (Gartenbauwissenschaft. Bd. 12. 1938. S. 121.)

Verff. gelangten bei Versuchen, die Hauptsporenflugzeit der Askosporen von Venturia im Alten Land festzustellen, zu einem nur schwer auswertbaren Ergebnis, da der Askosporenflug sehr gering war. Neben der mit Vaseline bestrichenen Objektträger-Fangmethode wurden Zweige von 6 Apfelsorten in Ölpapiertüten gesteckt. Von Anfang April an wurde je Baum und Sorte je eine Tüte für mehrere Tage entfernt und dann wieder aufgesetzt. Die Methode wurde bis zum Ende der Askosporenflugzeit an anderen Zweigen laufend fortgesetzt. Einige Zeit danach wurden die Tüten entfernt und die Fusikladiumflecken ausgezählt. Zweige, die während der ganzen Askosporenflugzeit eingetütet waren, zeigten teilweise starken Befall durch Venturia. Dieselben Merkmale traten an Zweigen auf, die zur Hauptsporenflugzeit einer Infektion nicht ausgesetzt waren. Als Ursache dieses Befalls sehen Verff. den Grind an. Bei der Bekämpfung des Fusikladiums im Alten Land wäre also nicht nur die Zeit des Askosporenfluges zu berücksichtigen, sondern auch die Reife der Sporen auf den Grindpolstern.

Röder (Berlin-Dahlem).

Davis, B. H., The Cercospora leaf spot of rose caused by Mycosphaerella rosicola. (Mycologia. Vol. 30. 1938. p. 282—298.)

Die verschiedenen in der Literatur erwähnten Cercosporaarten auf Rosen lassen sich zu 3 Spezies vereinen:

C. rosae (Fuckel) v. Höhn, C. rosicola Pass. und C. hyalina Muller et Chupp. Beschreibung und Synonyme werden angegeben. Verf. fand außer diesen in den südlichen Vereinigten Staaten noch eine neue Art, C. Puderii sp. n. Nach Überwinterung von Rosenblättern mit Flecken von C. rosicola entwickelten sich darauf Perithezien. Durch Infektions-

und Kulturversuche wurde der Nachweis erbracht, daß es sich hierbei um die Perfektform von C. rosicola handelt. Der als Mycosphaerella rosicola (Pass.) comb. nov. beschriebene Pilz hat folgende Maße: Perithezien 65—105 μ (meist 75—80 μ), Ascusschläuche 36—57 $\times$ 9—11 μ (meist 45 $\times$ 9 μ), Askosporen zweizellig 13—17 $\times$ 4—5,3 μ.

Schultz (Berlin-Dahlem).

Bond, E. T., Infection experiments with Cladosporium fulvum Cooke and related species. (Ann. Appl. Biol. Vol. 25. 1938. p. 277—307.)

Zahlreiche Infektionsversuche mit Cladosporium fulvum an verschiedenen Tomatensorten geben Auskunft über die Bedingungen, die zur Infektion führen und über den Verlauf derselben sowie über die Frage, welche Pflanzenarten und -sorten immun, widerstandsfähig oder anfällig sind. Das Verhalten dieses Pilzes wurde dann verglichen mit demjenigen anderer Arten derselben Gattung, und zwar C. cucumerinum und C. herbarum, woraus die folgenden die Pathogenität betreffenden Merkmale als typisch für die Gattung Cladosporium abgeleitet wurden: Der unveränderte Keimschlauch dringt durch die Spaltöffnungen ein und entwickelt ein interzellulares Mycelium ohne Haustorien. Die Konidienträger entstehen subepidermal, bilden keine Lager auf der Oberfläche des pflanzlichen Organs und auch nicht unterhalb der Kutikula.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Bough, A. S., Honey Fungus as a disease of Rhododendron. (The Gardeners Chronicle. Vol. 114. 1938. S. 84.)

Ein wenig bekannter Schädiger an Rhododendron ist der Hallimasch Armillaria mellea (Honey Fungus). Verf. beschreibt den Befall junger Pflanzen an einem mit halbverfaulten Baumstümpfen bestannen Ort. Die ersten Anzeichen machten sich in einem Verfärben und Gelbwerden der Blätter bemerkbar, die bald abfielen. Rhizomorphen zeigten sich an den Wurzeln und im Kambium, weißes Myzel rings um den Wurzelhals und den unteren Stammteil. In einzelnen Fällen konnten die Rhizomorphen bis zu den Baumstümpfen zurückverfolgt werden, in anderen war eine einwandfreie Klärung über das primäre Auftreten des Parasiten nicht möglich. Am anfälligsten scheinen die Sorten der „Sanguineum"-Gruppe zu sein, doch wurden auch Pflanzen der „Lapponicum"- und „Saluenense"-Gruppe befallen. Nach Ansicht des Verf.s soll es über ein Dutzend Rassen des Hallimasch geben, die sich nicht nur in der Form der Fruchtkörper, sondern auch in der Stärke der Rhizomorphenbildung und der Virulenz unterscheiden. Die Ausbreitung des Pilzes erfolgt durch Rhizomorphen und Sporen. Letztere müssen jedoch erst auf abgestorbenes Holz in oder auf dem Boden gelangen, um auskeimen zu können. Lebende Pflanzen soll der Parasit nur durch die Rhizomorphen anzugreifen vermögen. Deshalb ist es zur Bekämpfung notwendig, sämtliche im Boden befindlichen Holzstücke und Baumstümpfe sorgfältig zu entfernen. Außerdem wird eine Behandlung des Bodens mit Fungiziden empfohlen.

Röder (Berlin-Dahlem).

Picbauer, R., Addenda ad floram Cechoslovakiae mycologicam, Pars VIII. (Verhandl. d. Naturforsch. Ver. in Brünn. 1937.)

Die Arbeit gibt eine Aufzählung von Pilzen, die in Mähren und der Slovakei gefunden worden sind. Folgende Arten werden samt ihren Fundorten aufgezählt: Myxomyceten 1, Phycomyceten 24, Ascomyceten 34, Basi-

diomyceten 131, Fungi imperfecti 67. Unter den aufgezählten Pilzen werden folgende Arten neu beschrieben: Ascomyceten: Helotium moravicum Picbauer n. sp. auf angeschnittenen Ästen; Pyrenoperiza nigra Picb. n. sp. auf Ausläufern von Dipsacus silvestris. Fungi imperfecti: Ascochyta Zavřelii Ignatii Picb. n. sp. auf Blättern von Onopordon acanthium; Septoria oenanthis Picb. n. sp. auf Blättern von Oenanthis aquatica; Hainesia Zavřelii Ignatii Picb. n. sp. auf Blättern von Lythrum salicaria; Marsonia moravica Picb. n. sp. auf Blättern von Anemone ranunculoides; Cerebella moravica Picb. n. sp. auf Ähren von Alopecurus aequalis.

Bojanovsky (Brünn).

Zimmermann, S., Il metodo delle lastrine di rame per la diagnosi della degenerazione delle patate. [Die Kupferplättchenmethode für die Diagnose des Kartoffelabbaues.] (Riv. Patol. Veg. Jahrg. 27. 1937. Nr. 5—6. S. 161—185.)

Verf. hat verschiedene Versuche gemacht, um die Brauchbarkeit dieser, von Bechhold und Erbe erfundenen Methode zu prüfen. Die Versuche wurden teils in Italien, teils in Palästina durchgeführt. Die Ergebnisse sind folgende: Proben, welche auf Knollen derselben Sorte und Herkunft, aber an verschiedenen Tagen gemacht worden sind, haben verschiedene Werte für den Index gegeben; der Farbton scheint für jede Sorte spezifisch zu sein; die Breite der gefärbten Zone und der Sortenindex sind von der durchschnittlichen Größe der Knollen unabhängig; die Dauer der Lagerung und der Ruhezustand der Knollen üben einen Einfluß auf den Index; im besonderen fällt während der Wachstumsperiode der Indexwert sowohl bei kranken wie bei gesunden Kartoffeln bis 0.

Pesante (Rom).

Tierische Schädlinge.

Jancke, O., Über die Blutlausanfälligkeit von Apfelsorten, wilden Malusarten und -bastarden, sowie die Züchtung blutlausfester Edeläpfel und Unterlagen. (Phytopathol. Ztschr. Bd. 10. 1937. S. 184—196.)

Verf. hat die Blutlausanfälligkeit von 103 Apfelsorten und 79 Malusarten und -bastarden mit Hilfe künstlicher Infektion untersucht. Dabei wurden 5 Befallsstärken unterschieden, wobei die Befallsklassen 3 und 4 die Bezeichnung „leicht anfällig" oder „praktisch blutlausfest" und „unanfällig" erhielten. Von den 103 Edelsorten waren 6 unanfällig und 50 blutlausfest, von den Malusarten und -bastarden 17 bzw. 64%. Unter den Nachkommen freibestäubter blutlausfester Edelsorten fanden sich bisher weniger unanfällige bzw. blutlausfeste Sämlinge als unter den Nachkommen frei abgeblühter Wildäpfel der gleichen Anfälligkeitsstufe. Durch Kreuzungen unanfälliger oder blutlausfester Edelsorten wurden 64% unanfällige und 23% blutlausfeste Sämlinge erzielt, während unter sich gekreuzte blutlausfeste Wildäpfel 78% unanfällige und 18% blutlausfeste Nachkommen ergaben. Verf. betont aber ausdrücklich, daß diese Angaben nur für die klimatischen Verhältnisse Mitteldeutschlands Gültigkeit beanspruchen können. Für die Blutlausbekämpfung ist neben der Züchtung blutlauswiderstandsfähiger Edelsorten diejenige blutlausfester Unterlagen nicht minder wichtig, da blutlausbefallene Unterlagen in kalten Wintern den Schädling vor dem Aussterben bewahren.

Braun (Berlin-Dahlem).

Lucchese, E., Contributi alla conoscenza dei Lepidotteri del melo — Cydia pomonella L. [Beitrag zur Kenntnis der Apfelbaum-Lepidopteren — C. pomonella L.] (Bol. Labor. Zool. Gen. Agr. Portici. Bd. 30. 1938. S. 323—369.)

Nach einer ausführlichen Beschreibung des Insekts in allen Stadien seiner Entwicklung geht Verf. zur Schilderung der Biologie desselben, in Beziehung zur Biologie seiner Wirtspflanzen (Apfelbaum u. a.), über. Die Beobachtungen, von welchen berichtet wird, und durch welche eine exaktere Grundlage für die Bekämpfung geschaffen werden soll, wurden in der Prov. Neapel gemacht. Eine Beschreibung der Bekämpfungsmethoden schließt die Studie. Zahlreiche Abbildungen und Diagramme und ein bibliographisches Verzeichnis ergänzen die Arbeit. Pesante (Rom).

Farský, O., Eine neue und sehr ernste Erkrankung von Lärchenjungtrieben. [Nové a velmi vážné onemocnění modřínových mlazin.] (Československý les. Jahrg. 16. 1936. Nr. 1—2.)

In den Jahren 1926—1935 wurde in verschiedenen Waldbeständen Mährens und teilweise auch Böhmens folgende Erkrankung an Lärchen festgestellt: die Nadeln an den Jungschossen waren rötlich oder grau verfärbt, verschiedenartig verdreht wie gekräuselt, vertrocknet oder vertrocknend. Die Rinde der Jungschosse war stellenweise verrunzelt, höckrig, grindig, angeschwollen und manchmal rötlich verfärbt. Die kranken Jungschosse zeigten auch Harzfluß. Das ganze Aussehen des Baumes war verändert, mehr kugelig und strauchartig. Auf allen kranken Bäumen wurden Blattläuse gefunden, und zwar hauptsächlich Sommergenerationen von Chermes abietes Kaltb. und Cnaphalodes strobilobius Kaltb., von denen aber festgestellt wurde, daß sie nicht die Erreger der Krankheit sind, ferner Pilze (Cladosporium), die als sekundär verbreitete Saprophyten erkannt wurden. Die Frage nach dem unbekannten Erreger der neuen, bisher noch nicht beobachteten Krankheit kam der Lösung näher, als auf Nadelbäumen eines nordmährischen Reviers die Blattlaus Lachnus laricis Koch gefunden wurde. Genauere Untersuchungen der erkrankten Lärchen bestätigten die Vermutung, daß diese Blattlaus tatsächlich der gesuchte Krankheitserreger ist. Zur Bekämpfung werden die gegen Blattläuse allgemein üblichen Präparate empfohlen. Bojanovsky (Brünn).

Zattler, F., Blattwespenlarven als Hopfenschädlinge. (Allg. Brauer- und Hopfen-Zeitung. Bd. 78. 1938. S. 621—622.)

In der Hallertau werden seit einiger Zeit erhebliche Fraßbeschädigungen an Hopfenblättern beobachtet, die durch die Larven einer Blattwespe hervorgerufen werden, deren genaue Artbestimmung erst später vorgenommen werden kann. Die Larven erreichen ungefähr eine Länge bis zu 11 mm und eine Breite von 3 mm. Ihre Farbe ist gelblichweiß, eine dünne Schleimbedeckung des Körpers verleiht ihnen ein glänzendes, nacktschneckenartiges Aussehen. Die Schädlinge fressen an den Blättern und lassen die kräftigen Blattrippen und die feinen Blattäderchen als Skelett stehen. Sie halten sich gewöhnlich an der Unterseite des Blattes auf, befressen das Blatt auch von unten her, auf dem befallenen Blatt sind meist 5—10, manchmal auch bis 20 Larven festzustellen. Eine einzelne Larve vermag innerhalb 24 Std. mehr als 1 qcm Blattfläche zu skelettieren. Obwohl die Blüten und Dolden des Hopfens nicht befallen werden, tritt doch eine starke Schädigung des Hopfens durch Verringerung des Doldenertrags ein.

Zur Bekämpfung des Schädlings stellte Verf. Versuche im Laboratorium und in der Praxis mit verschiedenen Mitteln an. Im Laboratorium befriedigten die selbst

herstellbaren Berührungsgifte, wie Schmierseifenlösungen und deren Mischungen mit Tabakextrakt r. ac. nicht vollauf. Eine restlose Abtötung aller Versuchstiere trat jedoch bei allen Derrismitteln, Exodinal, Kontra und Lianol sowie dem gleichzeitig pyrethrumhaltigen Mittel Spruzit ein, während das reine Pyrethrumpräparat X ungenügend wirkte. Bei den Freilandversuchen verwendete man nur die Derris- und Pyrethrum-Derrisspritzmittel im Vergleich zu zwei verschieden zusammengesetzten Schmierseifen-Tabakextraktbrühen, die alle für den Hopfen selbst unschädlich waren. Bei allen Derris- und Pyrethrum-Derrismitteln waren nach 48 Std. alle Larven tot. Von den 1proz. Schmierseifenlösungen hatte die mit einem Zusatz von 1% Tabakextrakt eine 80proz. Wirkung, während die mit einem Zusatz von 0,5% Tabakextrakt bereitete ungenügend war.

Der jetzige Entwicklungszustand des Hopfens läßt die Verwendung von Stäubemitteln und arsenhaltigen Magen- oder Fraßgiften nicht mehr zu, doch könnte diesen Mitteln bei einer in Zukunft notwendig werdenden intensiven Bekämpfung der Wespenlarven Bedeutung zukommen, da sie den Vorzug haben, billiger zu sein.

Heuß (Berlin).

Veauvy, P., L'Eudémis. (Revue de viticulture. Vol. 89. 1938. p. 9—12, 23—26, 69—72, 94—100.)

Der Traubenwickler Polychrosis botrana wird von den Winzern oft mit Clysia ambiguella verwechselt, der in den Weinbergen des Dép. Aude zu verschwinden beginnt. Polychrosis botrana ist vor etwa 30 Jahren vom Süden her eingewandert und seine dritte Generation vernichtet oft die Ernte noch kurz vor der Lese. Der Schädling zeichnet sich durch große Anpassungsfähigkeit an Hitze und Trockenheit aus und besitzt große Vermehrungsfähigkeit. Da in Frankreich 1937 wieder große Schädigungen durch ihn angerichtet wurden, gibt Verf. eine Zusammenfassung unserer Kenntnisse über die Lebensweise und Bekämpfung von Polychrosis botrana. Darin sind viele wichtige Einzelbeobachtungen, besonders mit Bezug auf das Jahr 1937 enthalten, die aber im Original eingesehen werden müssen. Zur Bekämpfung des Schädlings werden die bekannten Mittel angegeben und darauf hingewiesen, daß nur dann eine Wirkung zu erzielen ist, wenn der Zeitpunkt für die Bekämpfung richtig gewählt ist. Auch wird die gemeinsame Bekämpfung empfohlen.

K. Müller (Freiburg i. Br.).

Woldau, E., Beitrag zum Studium der Wanzenschädigungen an Halmfrüchten. (Dtsch. Landwirtsch. Presse. Jahrgang 65. 1938. S. 301—302.)

In der Südslowakei kommen folgende Wanzenarten an Getreide vor: Eurygaster maura, E. austriaca, Aelia acuminata, Miris dolabratis und Mesocerus marginatus. Die Schadbilder können sehr verschiedenartig sein, je nachdem, in welchem Wachstumsstadium und in welchem Teile die Pflanzen geschädigt sind. Im Frühjahr findet man vielfach Saugstellen an den Herzblättern der Winterung, die zum Absterben gebracht werden. Während des Sommers werden Getreidehalme angestochen und ausgesogen, so daß das Schossen unterbrochen wird und die Ähren noch in der Blattscheide steckend vertrocknen. Sehr häufig werden die Ähren gelblich weiß, die Grannen stehen aufrecht und brechen im Winde leicht ab. Außer Winterweizen werden auch Roggen und Hafer befallen. Abgesehen von der Qualitätseinbuße waren 1937 auf mehreren Weizenschlägen 0,8—1,3% der Pflanzen ganz oder teilweise von den Wanzen zerstört worden. Fangversuche hatten bisher keinen genügenden Erfolg gebracht. Es wird empfohlen, die Überwinterungslager (Wegränder, Raine usw.) im Frühjahr abzubrennen.

Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Sellke, K., Der Pfirsichtriebbohrer (Cydia molesta Busck.). (Nachrichtenbl. f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 18. 1938. S. 69—73.)

Die Heimat des Schädlings ist wahrscheinlich China. Von dort hat sich der Pfirsichbohrer über Japan, Korea und Australien nach Amerika ausgebreitet. In Europa wurde er in Oberitalien, der Schweiz und in Südfrankreich beobachtet. Auch für Deutschland besteht Gefahr einer Einschleppung und Einbürgerung. Befallen und geschädigt werden ausschließlich Rosaceen, und zwar Pfirsich, Birne, Apfel, Aprikose, Quitte, Pflaume, Kirsche und Mandelbaum. Entwicklung, wirtschaftliche Bedeutung und Bekämpfung werden kurz geschildert. Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Göpp, K. und Sauer, W., Versuche zur Prüfung von Montanin für die Kornkäferbekämpfung. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 45. 1938. S. 235—238.)

Aus den durchgeführten Versuchen geht hervor, daß eine Behandlung mit konzentriertem Montanin und mit verschieden starken Lösungen im Gegensatz zu den Spritzmitteln Anox M, Duracet und Littacid-flüssig nicht den sofortigen Tod der Kornkäfer zur Folge hatte. Da die Käfer erst nach längerer Zeit und auch dann nicht immer restlos abstarben, besteht die Möglichkeit, daß die weiblichen Käfer noch Eier legen und so für weitere Vermehrung Sorge tragen. Montanin muß daher als Kornkäferbekämpfungsmittel abgelehnt werden. Außerdem besteht die Möglichkeit der Beeinträchtigung von Gerste und Malz, wenn diese in Behältern aufbewahrt werden, die kurz zuvor mit stärkerer Montaninlösung behandelt worden waren.

Heuß (Berlin).

Yeager, J. Franklin, Mechanographic Method of recording Insect Carding Activity, with Reference to Effect of Nicotine on isolated Heart Preparations of Periplaneta americana. (Journ. Agric. Res. Vol. 56. 1938. p. 267—276.)

Mit einem in der Arbeit beschriebenen photographischen Verfahren kann der Herzschlag der Insekten mit genügender Klarheit im Bild festgehalten werden, um den Vorgang des Cardial-Mechanismus und die Wirkung verschiedener Faktoren auf ihn zu studieren, z. B. den Einfluß von pharmakologischen und toxikologischen Stoffen. In ähnlicher Weise kann die Wirkung solcher Substanzen auf den Verdauungsapparat geprüft werden. Sowohl Geschwindigkeit wie Amplitude des Herzschlages können gemessen werden. Die einzelnen Phasen des Herzschlages werden an Periplaneta americana (amerikanische Schabe) festgestellt.

Karl Gößwald (Berlin-Dahlem).

Kunike, G., Zur Lebensweise der Teppichkäfer. (Nachrichtenbl. f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 18. 1938. S. 79—80.)

Während die Imagines der Teppichkäfer im Frühjahr und Sommer auf den Blüten verschiedener Pflanzen anzutreffen sind, zerstören ihre Larven Wollsachen, Pelze, Federn usw. Die fünf bei uns heimischen Arten (Anthrenus scrophulariae, A. pimpinellae, A. verbasci, A. muscorum und A. fuscus) ähneln einander sehr, unterscheiden sich aber hauptsächlich durch den Bau ihrer Pfeilhaare und in der Lebensweise. Die charakteristischen Merkmale jeder Art werden durch Bild und Text erläutert. Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Tierkrankheiten. Tierparasiten.

Steiner, G., Opuscula miscellanea nematologica. VII. (Proc. Helm. Soc. Washington. Vol. 5. 1938. p. 35—40.)

In dieser Mitteilung berichtet Verf. u. a. über das Auftreten von Sporozoen in Nematoden. 3 verschiedene Arten von Mikrosporidien wurden beobachtet. Ihre Größe schwankt zwischen 3 und 6 μ. Es wird angenommen, daß die Organismen durch die Mundöffnung ihrer Wirte eindringen.

Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Hess, E., A shell disease in Lobsters (Homarus americanus) caused by chitinovorus bacteria. (Journ. Biol. Board Canada. Vol. 3. No. 4. 1937. p. 358—362.)

Eine bisher unbekannte Schalenkrankheit des Hummers Homarus americanus wurde in verschiedenen Meeresteilen Nordamerikas beobachtet. Sie führte in einer Hummerfarm bei Yarmouth, N. S., zu einer Epidemie. Von den befallenen Stellen der Hummerpanzer wurden Chitin abbauende Bakterien isoliert. Reinkulturstudien ergaben, daß die betreffenden Bakterien sowohl aerob wie anaerob wuchsen. Die Chitinolyse in Beneckes Medium mit Chitinstreifen erfolgte zuerst an der Oberfläche und schritt dann nach unten fort. Übertragungen eines stark chitinolysierenden Stammes auf lebende Hummer gelang nicht. C. R. Baier (Kiel-Kitzeberg).

Verschiedenes.

Breit, E., Studien über die Darmflora des Menschen. Diss. Univ. Kiel 1935.

Verf. behandelt zunächst das Bacterium bifidum und seine Stellung im System. Die Methodik der Deckglas-Agarpräparate wurde als sehr zweckmäßig gefunden. Es gelang damit, Bact. bifidum bei 79% von 34 untersuchten Erwachsenen im Stuhle nachzuweisen. Isolierungsversuche dieses Bakteriums haben nur dann Aussicht auf Erfolg, wenn es in unbedingter zahlenmäßiger Überlegenheit vorhanden ist. Diese kann im Darm mancher Personen durch starken Milch- und Milchzuckergenuß herbeigeführt werden. Durch täglichen Genuß von ½ l Reformjoghurt (Acidophilus-Milch) wurde jedoch das Bact. bifidum im Darm derart zurückgedrängt, daß es selbst in Deckglaspräparaten nicht mehr zu finden war. Es stellte sich erst 3 Tage nach Weglassen des Reformjoghurts und Trinken reiner Milch wieder ein. Das Vorkommen des Bact. bifidum im Kinderdarm ist unbedingt an sein Vorhandensein bei der Mutter z. Zt. der Geburt — sei es im Darm, sei es in der Vagina — gebunden. Im besonderen ist noch folgendes zu bemerken: Die Dicklegung von Lackmusmilch erfolgt unter gleichzeitiger Rotfärbung in der Regel nach 7 Tagen. Später wird die Milch von unten nach oben reduziert. Die durchschnittlich nach 10 Tagen Bebrütung erzielte Azidität betrug 0,87%. Bezüglich der Kohlehydratvergärung besteht viel Ähnlichkeit mit Thermobact. acidophilum. Trotzdem kann Verf. auf Grund seiner übrigen Ergebnisse keine Berechtigung dazu erkennen, nähere verwandtschaftliche Beziehungen zwischen diesen beiden Keimen anzunehmen. Er glaubt viel eher, einer Zuordnung desselben zu den Corynebakterien das Wort reden zu müssen. Nebenbei wurde auch das Vorkommen von Propionsäurebakterien im Darm von Kindern und Erwachsenen beachtet. Es ergab sich, daß Propionsäurebakterien nur durch Käsegenuß in den

Darm gelangen und sich nur für kurze Zeit im menschlichen Darm zu halten vermögen. Weitere Versuche über die Beeinflussung der Darmflora sollten klären, 1. ob ein von Prof. Herbst in Danzig hergestelltes Zellulosemehl die Zusammensetzung der Darmflora zu beeinflussen vermag und 2. ob es gelingt, durch Einnahme von Salzsäure die p_H-Zahl des Darmes derart zu verändern, daß der gramnegative und säureempfindliche Teil der Flora verkleinert wird und so unter Umständen eine Bekämpfung der Dyspepsie-Coliarten ermöglicht werden kann. Wesentliche Änderungen der Zusammensetzung der Darmflora konnten hierbei nicht beobachtet werden. K. J. Demeter (München-Weihenstephan).

Resühr, Br., Untersuchungen über die Symbiose von Tieren mit Pilzen und Bakterien. VI. Mitteilung: Zur Morphologie und Protoplasmatik der bakterioiden Symbionten einiger Homopteren (Philaenus spumarius L., Cicadella viridis L. und Pseudococcus Citri Risso). (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 9. 1938. S. 31—79.)

Von dem Gesichtspunkt ausgehend, daß die Kultur tierischer Symbionten noch in recht wenigen Fällen gelungen ist, und insbesondere die Wirkung der natürlichen Umgebung des Symbionten im Tier noch überhaupt nicht bekannt ist, wird die Zustandsform der Symbionten in Abhängigkeit von den Verhältnissen der Nährlösung eingehend untersucht. Für die Wahl der Objekte war die riesige Größe der Symbionten entscheidend.

Die Symbionten von Philaenus spumarius L. und Cicadella viridis L. sind in künstlichen Lösungen nur in solchen besonderer Zusammensetzung formkonstant; das osmotische Optimum liegt bei 7—8 Atü. Reine Elektrolytlösungen wirken quellend, ebenso, wenn auch etwas weniger, Anelektrolytlösungen, selbst solche großmolekularer Stoffe. Die Quellwirkung der Elektrolyte vollzieht sich nach der Reihenfolge Ca, Mg > K > Na, Li und NO_3 > Cl, Azetat > SO_4. 5% $CaCl_2$ löst das Symbiontenplasma völlig, 40 proz. nicht. Mit zunehmender Konzentration der Wasserstoffionen nimmt die Quellung ab bei Verminderung der Vitalität, die am größten in annähernd neutraler Lösung ist. Optimales Untersuchungsmedium ist seewasserhaltige Glukoselösung von 9 Atm. Druck.

Die Symbionten sind von einer Membran umgeben, die den Infektionsformen allseitig anliegt; später liegt der Protoplast in verschiedenartiger Weise gekrümmt und von der Membran abgehoben in dieser. Die Vermehrung der Symbionten geschieht durch Zerfall des gebogenen Symbionten in mehrere Teilstücke, die sich mit neuer Membran umgeben und nach Zerfall der mütterlichen Membran frei werden.

Der Zerfall kann durch hypertonische Lösungen künstlich hervorgerufen werden. In Mycetomen erfolgt er nach tage- bis wochenlanger Einwirkung schwach hypertonischer Glukoselösung überall, nicht nur im Infektionshügel, wie unter natürlichen Bedingungen. Auch beim Verdursten der Zikaden tritt der Zerfall ein. Es kommen auch als natürliche Symbiontenformen „Schollenformen" vor, die keine Involutionsformen sind, dichteres Plasma besitzen und künstlichen Außenbedingungen gegenüber weniger empfindlich sind.

Die Plasmaeinschlüsse geben keine Feulgen-Reaktion und bestehen weder aus Glykogen, noch aus Granulose, Volutin oder Fett. Das p_H des Symbiontenplasmas beträgt etwa 7. Buchners Hypothese der Bakteriennatur der Symbionten ist durch die vorliegenden Ergebnisse nicht erschüttert.

Von Einzelheiten abgesehen (Größe, Festigkeit der Membranen, Plasmadichte, Empfindlichkeit gegenüber künstlichen Bedingungen), stimmt der Symbiont von Pseudococcus Citri Risso mit den beiden obigen Symbionten überein.

Einwandfreie Kulturversuche gelangen nicht. Weitere Einzelheiten sind im Original nachzusehen.

Rippel (Göttingen).

Aoki, K., Über die Analyse der Bakterienkörper der vier Rezeptoren. (Ztschr. f. Immunitätsforsch. u. exper. Therapie. Bd. 91. 1937. S. 404—408.)

Wie schon früher vom Verf. nachgewiesen wurde, enthalten die Bakterien 4 Rezeptoren, von denen je 2 zusammen 2 voneinander getrennte Gruppen darstellen. Die 1. Gruppe wurde mit α, die 2. mit β bezeichnet. Diese beiden Gruppen wurden wieder in 2 Untergruppen eingeteilt, von denen die 1. die spezifische, die 2. die unspezifische Form genannt wurde.

Durch verschieden lange Wirkung der Wärme von 60° konnten die α- und β-spezifischen und unspezifischen Rezeptoren voneinander getrennt dargestellt werden, und zwar die α-spezifischen und unspezifischen sowie die β-spezifischen in gelöstem Zustand, die β-unspezifischen dagegen in ungelöstem Zustand.

Die α-Rezeptoren wirkten bei Kaninchen sehr giftig, die β-Rezeptoren dagegen fast ungiftig. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Blumenberg, W., Zur Frage der Gesundheitsschädigung durch angestoßene Porzellangeschirre. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 120. 1937. S. 87—102.)

Unglasierte Porzellane sind um das Vielfache (bis zum 700fachen) keimreicher als glasierte, außerdem ist die Vermehrungsgeschwindigkeit der an unbeschädigten Stellen verbleibenden Bakterien stets eine weit geringere als diejenige von Keimen an beschädigten Stücken. Das gilt in besonderem Maße, wenn noch kleinste Spuren von Eiweiß vorhanden sind, die nicht einmal unter den Bedingungen des Versuches beseitigt werden können. Es wird deshalb die Forderung erhoben, daß angestoßene Porzellangeschirre weder zur Zubereitung und zum Anrichten noch zur Aufbewahrung von Speisen Verwendung finden und aus dem Verkehr gezogen werden, soweit es sich um öffentliche und private Betriebe handelt, in denen zahlreiche Menschen verpflegt werden. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Kliewe, H. und Haas, W., Kunstdüngemittel und Sekundärinfektionen. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 120. 1937. S. 198—208.)

Beim Zustandekommen einer Sekundär-Infektion nach der Anwendung von Handelsdünger sind von ausschlaggebender Bedeutung die Durchtrennung, Auflockerung und Quellung der Haut, ferner die Ätzwirkung des Düngemittels und die in die Wunde gelangten virulenten Eitererreger. Die im Handelsdünger selbst vorkommenden Keime sind in der Regel bedeutungslos; es wurden Colibakterien, Enterokokken sowie schleim- und sporenbildende Bazillen gefunden (Kalkstickstoff, Kainit, Kalisalz, Leunasalpeter, Thomasmehl und Superphosphat erwiesen sich als keimfrei).

Eine antibakterielle Wirkung des Handelsdüngers auf Keime, die in kleinsten Wunden usw. vorkommen, war nicht feststellbar. In stärkerer Verdünnung übten Kalisalz, Kainit und Kalksalpeter sogar einen wachstumsfördernden Einfluß auf Eitererreger aus.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Abgeschlossen am 2. Dezember 1938.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 99. No. 24|26.
Ausgegeben am 10. Februar 1939.

Nachdruck verboten.

Studies on the Bacterial-Plant Groups.

VI. Variation in the Effectiveness of Different Strains of Nodule Bacteria of the Cowpea Group.

(II) Influence of Light on the Effectiveness.

By **M. S. Raju.**
Agricultural Research Institute, Coimbatore (India).

With 3 figures in the text.

In the work reported so far, the mutual influence of several strains of nodule bacteria and their host plants under varying degrees of light intensity were studied. But the study and the conclusions arrived at therefrom were based mainly on the data pertaining to one single stage in the development of the crop. While the data led to interesting conclusions of both economic and academic importance, they do not afford any glimpse of how the culture and its host plant mutually react to each other at several stages in their development, particularly in respect of dry matter production, nitrogen fixation and nodule formation among others. Therefore, it is proposed to follow periodically the changes in these quantities during different seasons.

Experiment.

Red gram crop is selected for these experiments. As this crop was found to widen the differences existing in the effectiveness of several cultures, it is hoped, that by selecting this crop for the present study, a more graduated picture of these differences could be obtained. The variety of red gram K-838, Conard, California, was used. For purposes of comparison, the experiment was repeated with horse gram also, during the same season. Three cultures Cowpea 600, Cowpea 602 and Dew Gram 34, with widely varying effectiveness were used. The details of the technique adopted were the same as those described in the earlier part (2). Four pots for each treatment were harvested at intervals of fortnight. The following measurements were made on the samples drawn.

The number of nodules, dry weight and total nitrogen of the roots, stems and leaves were noted.

To make sure that there was no extraneous contamination and that the originally used cultures alone were functioning throughout the experimental period and producing the observed reactions in the host plant, the organisms were reisolated from the nodules at the time of each sampling, and their identity established. No chance contamination took place at any stage.

Table 1. Showing the Variations in the Progressive Increase in the Production of Dry Matter and Nitrogen Content of Red Gram Plants Treated with Different Cultures.

Sown on Aug. 11, '32. Harvested on Aug. 30, '32. (Age 19 days.)
Solar rad. 82,000 g. cal. per sq. cm. 175 hrs. Sun-shine. (470 per hr.)
Per 10 Plants.

Treatment	Roots		Stems		Leaves	
	Dry Matter g.	Total N. mg.	Dry Matter g.	Total N. mg.	Dry Matter g.	Total N. mg.
Control	0.38	13.14	0.12	5.48	0.17	11.07
Cowpea 600 . . .	0.32	6.82	0.17	5.39	0.31	18.58
Dew Gram 34 . .	0.37	11.87	0.17	5.49	0.30	16.07
Black Gram 2 . .	0.28	6.42	0.13	4.37	0.25	15.35
Harvested on Sept. 11, '32. (Age 31 days.) 293 hrs. Sun-shine, Solar rad. 89,400 g. cal. per sq. cm. (306 per hr.)						
Control	0.27	5.24	0.30	4.02	0.76	16.09
Cowpea 600 . . .	0.42	9.44	0.32	4.81	0.73	20.62
Dew Gram 34 . .	0.27	5.58	0.31	4.16	0.72	16.94
Black Gram 2 . .	0.34	6.65	0.28	4.46	0.69	17.52
Harvested on Sept. 26, '32. (Age 46 days.) Solar rad. 94,900 g. cal. sq. cm. 440 hrs. Sun-shine. (216 per hr.)						
Control	0.59	8.50	0.42	3.98	0.72	10.88
Cowpea 600 . . .	0.59	14.49	0.58	9.35	1.29	34.59
Dew Gram 34 . .	0.62	9.86	0.54	5.12	0.90	13.75
Black Gram 2 . .	0.52	12.44	0.48	5.06	0.92	13.75
Harvested on Oct. 12, '32. (Age 62 days.) 522 hrs. Sun-shine, Solar rad. 98,600 g. cal. per sq. cm. (189 per hr.)						
Control	0.81	11.78	0.56	4.96	0.73	11.28
Cowpea 600 . . .	0.88	19.36	0.84	13.54	1.13	29.95
Dew Gram 34 . .	0.94	13.59	0.60	4.53	0.77	10.74
Black Gram 2 . .	0.78	10.47	0.51	4.76	0.63	13.43
Harvested on Oct. 29, '32. (Age 79 days.) 582 hrs. Sun-shine, Solar rad. 101,800 g. cal. per sq. cm. (176 per hr.)						
Control	0.97	10.71	0.70	5.36	0.74	10.07
Cowpea 600 . . .	1.33	23.92	1.15	20.53	1.27	48.43
Dew Gram 34 . .	0.84	12.42	0.59	3.95	0.72	8.50
Black Gram 2 . .	1.19	15.90	0.80	12.00	0.89	17.55

The data are embodied in Tables 1 and 2 are presented graphically in Plate I.

In all cases, nodulation commenced during the first fortnight. In the case of the most efficient culture, Cowpea 600, the number of nodules was very large, their number was increasing up to 45 days and thereafter remained constant for another fortnight. With the advance in age of the crop and the fall in the intensity of light, the number of nodules gradually tended to fall.

Of the two cultures, Black Gram 2 and Dew Gram 34, the former is comparatively more efficient, but, yet the number of nodules produced were fewer. In both the cases, the number of nodules continued to increase up to the 62nd day, and thereafter began to fall. But it will be seen, the fall

Table 2. Daily Variations in the Duration and Intensity of Sunlight, Nodule Production, Dry Weight and Total Nitrogen Content of Red Gram Plants at Different Stages of their Growth when Inoculated with Various Cultures.

Yield per ten plants.

Age	Sunshine		Control		Cowpea 00			Dew Gram 34			Black Gram 2		
	Duration	Intensity	Dry Wt.	Total N.	Nodules	Dry Wt.	Total N.	Nodules	Dry Wt.	Total N.	Nodules	Dry Wt.	Total N.
Days	hrs.		g.	mg.		g.	mg.		g.	mg.		g.	mg.
0–19	9.2	4300	0.035	1.57	6.50	0.085	1.62	0.16	0.044	1.77	0.37	0.035	1.38
19–31	9.8	617	– 0.055	– 0.36	4.77	– 0.005	0.34	1.09	0.039	– 0.56	– 0.25	0.054	0.21
31–46	9.8	368	0.027	– 0.13	2.60	0.066	1.9f	0.67	0.055	0.31	0.40	0.040	0.18
46–62	5,1	232	0.023	0.29	0	0.240	0.28	2.38	0.016	– 0.15	0.69	0	– 0.16
62–79	3.5	188	0.019	– 0.09	– 1.35	0.053	1.89	– 1.95	0.010	– 0.24	– 0.89	0.057	0.99

Sunshine Intensity in g. cal. per. sq. cm. Nodules per plant.

in the number of nodules produced by these two less efficient cultures was more sharp than by Cowpea 600.

Another interesting point to note is that while the greatest increase in the number of nodules produced by Cowpea 600 took place during the 2nd fortnight, a sharp increase in the fixation of nitrogen was actually observed only another fortnight later; thereby indicating that before the affect of active nodule formation is felt in the plant in the form of nitrogen fixation, there always appears to exist a certain amount of lag period.

Also in Black Gram 2, the next efficient culture, a similar observation is noticeable. But this active period occurred only a month later than in Cowpea 600.

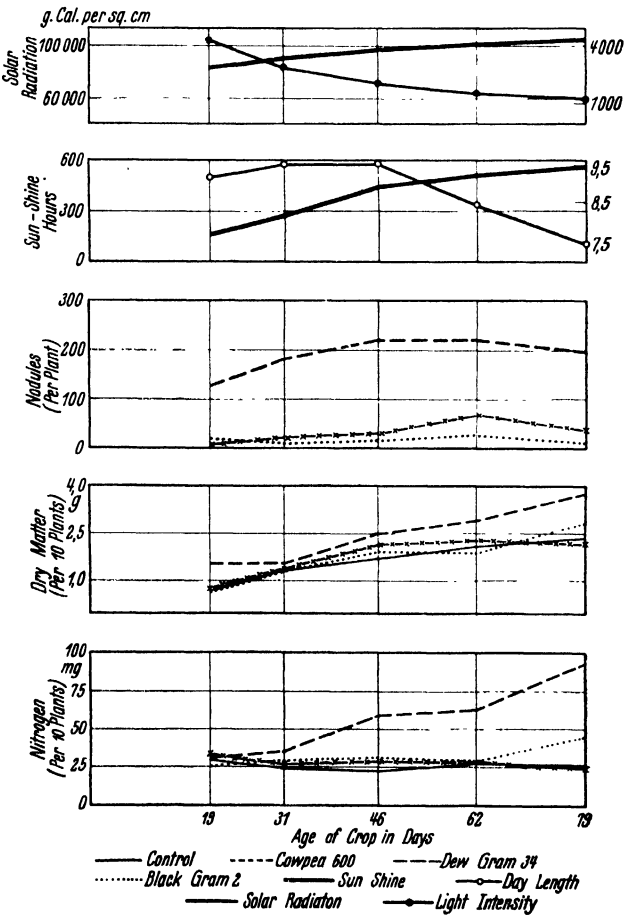


Fig. 1. Strain variations in their rates of dry matter production, nodule formation and nitrogen fixation in red gram. (Californian variety.)

Dew Gram 34, appears to be inherently an inefficient culture on this crop, as can be seen from the fact that although it produced large number of nodules than Black Gram 2, and also that its active period of nodulation synchronised with that of the latter, yet, it could effect no increase in the nitrogen of the plant, as did the culture Black Gram 2.

A further interesting observation is that in the cases of all the three cultures, the total nitrogen contents of the plants before and during their active periods of nodule formation were remaining almost constant and their magnitudes were within comparable limits of that of the control. Again, once the fixation of nitrogen commenced, it continued to increase in the case of efficient culture.

Again, about the time when the number of nodules tend to approach the maximum, it is noticeable that in plants treated with the efficient culture, Cowpea 600, and also Black Gram 2, which stands next to it, the dry matter tends to either fall or remain constant. This fall in both the cases, although occurred at different ages in their lives, was followed by a sudden and large increase. It is also observable that these sharp increases in dry matter accompanied the sharp increases in nitrogen.

An examination of the data of the total nitrogen fixed in the whole plant and in its leaves when inoculated with Cowpea 600, reveal three appearantly inexplicable features:

One was that the culture, having commenced to fix nitrogen in large amounts at high rates during the period from 31 to 46 days, did not continue to do so during the following fortnight, as should be ordinarily expected. The actual increase in the total nitrogen during the later period was only from about 58 to 62 mgs., per ten plants.

Secondly, by the time the plant attained an age of 79 days it is to be seen that there was a steep increase for the second time in nitrogen fixation, from about 62 to 94 mg.

The third feature was that although the nitrogen fixation was actually continuing to take place even after 46 days, there was a fall in the total nitrogen content of the leaves during the period from 46 to 62 days.

Now, due to the increased supply of nitrogen consequent on the bacterial activity by the time the crop was 46 days old, the metabolic activity of all parts of the plant, the leaves, the stems and the roots, was excited, thereby, there was created a considerable competition for the photosynthesates, between the several parts of the plant among themselves, on the one hand and between these and the bacteria on the other. This results in the depletion of carbohydrate reserves and also in the depression of photosynthesis. It is to be seen further that during this period, both the duration and the intensity of light decreased which naturally tend to lower the rate of photosynthesis. Thus, there was at once created a large demand for, and a considerable decrease in the supply of carbohydrates. This naturally resulted in the culture becoming less active for fixing nitrogen and as such, the actual increase in the total nitrogen of the plant was very low during this period.

As was already shown (loc. cit), nitrogen transport takes place from the leaves to the stems and roots. When the crop was between ages of 46 to 62 days, this transport was taking place in larger amounts into the roots and the stems to meet the demands of the increased metabolic activity in those regions. It was seen that during this period, the nitrogen fixing

capacity of the cultures became less and that only a minute increase in this quantity took place. Thus, when the supply of nitrogen to the leaf was almost constant and the transport from it was more, it is natural that there should be expected a marked fall in its nitrogen content, and this was what had happened.

Again, when the high rate of metabolic activity created by increased nitrogen fixation gradually falls off to normal, the competition for the carbohydrates also gets reduced with the result that the cultures once again begin to revive their activity in fixing nitrogen as the carbohydrates become increasingly available. Evidently, on account of this revival of their activity that during the fifth fortnight there was for the second time a marked increase in nitrogen fixation, from about 63 to 93 mg., per ten plants. This suggests the probability of the existance of a continuous cyclic process in nitrogen fixation by nodule bacteria, with alternate activity and dormancy.

The colour of the leaves when treated with Cowpea 600 was dark green or green even from the 31st day and continued to be dark green throughout the experimental period. In the rest, including the controls, the leaves were green till the 46th day and thereafter became light green to greenish yellow. It will be noted that this change in colour is accompanied by a large depletion of nitrogen in the leaf. The leaves of the plants treated with Black Gram 2, did not seem to have regained their green colour even by the end of 79 days when larger amount of nitrogen was fixed, probably the nitrogen fixed was translocated to the roots through the stems, leaving only a small percentage of nitrogen in the leaves. As stated already, the leaves will not be green unless the percentage of nitrogen in them also remains at a higher level.

The observations made above on the fixation of nitrogen and its movements in the plant at several stages in its growth, clearly suggests that as in the case of mineral nitrogen supplied artificially to the plant, so in the case of nitrogen manufactured by biological process by the nodule bacteria, it travels first into the leaves, the central seat of synthesis of proteins, and from there it is transported to the other parts of the plant.

Thus, the mechanism of utility of this biologically fixed nitrogen by the plant does not seem to differ from that when the plant is fed with mineral or other form of nitrogen as some workers seem to feel.

Table 3. Progressive Increase in Dryweight and Nitrogen Content of Red Gram Plants Treated with Different Cultures.

Sown on Oct. 12 & 13, '32. Harvested on Oct. 23, '32. (Age 9 to 11 days.) 36 hrs. Sun-shine, Solar rad. 1,900 g. cal. per sq. cm. (53 per hr.)

Per 10 Plants.

Treatment	Cotyledons		Roots		Stems		Leave	
	Dry Wt. g.	Total N. mg.	Dry Wt. g.	Total N. mg.	Dry Wt. g.	Total N. mg.	Dry Wt. g.	Total N. mg.
Control	0.96	30.1	0.08	3.5	0.08	5.0	0.05	4.0
Cowpea 600	0.87	31.5	0.07	4.1	0.07	4.8	0.05	3.9
Cowpea 602	0.89	29.9	0.08	3.3	0.07	4.5	0.04	3.3
Dew Gram 34	0.76	23.6	0.07	3.0	0.09	5.8	0.06	4.9
Black Gram 2	0.90	30.9	0.11	4.7	0.09	6.0	0.07	5.7
Mung	1.05	36.1	0.08	3.6	0.07	4.2	0.05	4.0
Red Gram I	1.18	40.6	0.07	2.7	0.07	4.7	0.03	3.1
Red Gram II	1.20	39.6	0.07	3.3	0.06	4.1	0.02	3.0

Table 3 (Continued).

Treatment	Roots		Stems		Leaves		Whole Plant	
	Dry Wt. g.	Total N. mg.	Dry Wt. g.	Total N. mg.	Dry Wt. g.	Total N. mg.	Dry Wt. g.	Total N. mg.
Harvested on Oct. 29, '32. (Age 16 to 17 days.) 56 hrs. Sun-shine, Solar rad. 3,140 g. cal. per sq. cm. (56 per hr.)								
Control	0.71	22.6	0.22	6.7	0.12	5.1	0.23	14.8
Cowpea 600	0.50	17.7	0.19	6.1	0.14	6.2	0.29	18.7
Cowpea 602	0.56	21.0	0.16	6.0	0.13	5.9	0.24	16.1
Dew Gram 34	0.55	15.3	0.20	6.9	0.15	6.6	0.29	19.1
Black Gram 2	0.42	10.4	0.20	6.9	0.17	6.5	0.38	24.7
Mung	0.55	19.6	0.17	5.9	0.11	4.9	0.23	14.3
Red Gram I	1.06	34.7	0.23	9.2	0.20	10.0	0.32	23.6
Red Gram II	0.40	11.3	0.08	3.7	0.08	4.5	0.10	7.7
Harvested on Nov. 6, '32. (Age 24 to 25 days.) 87 hrs. Sun-shine, Solar rad. 4,300 g. cal. per sq. cm. (50 per hr.)								
Control	0.23	3.7	0.47	10.1	0.30	6.8	0.75	32.2
Cowpea 600	0.32	7.6	0.33	9.2	0.29	7.2	0.72	37.0
Cowpea 602	0.22	4.0	0.47	11.1	0.34	10.5	0.78	33.0
Dew Gram 34	0.28	8.8	0.43	13.0	0.35	6.5	0.78	33.0
Black Gram 2	0.24	6.0	0.40	4.1	0.32	5.9	0.78	32.9
Mung	0.26	5.6	0.37	9.9	0.30	5.9	0.73	31.1
Red Gram I	0.35	11.2	0.10	3.6	0.19	5.5	0.42	20.3
Red Gram II	0.33	6.7	0.25	8.6	0.25	6.1	0.53	28.2
Harvested on Nov. 16, '32. (Age 33 to 35 days.) 121 hrs. Sun-shine, Solar rad. 5,600 g. cal. per sq. cm. (45 per hr.)								
Control	0.24	4.9	0.54	12.2	0.45	6.9	1.06	35.1
Cowpea 600	—	—	0.64	13.9	0.51	7.4	1.13	36.3
Cowpea 602	0.14	2.0	0.54	13.5	0.45	7.4	1.10	37.8
Dew Gram 34	0.13	3.6	0.77	12.7	0.52	6.1	1.08	33.1
Black Gram 2	—	—	0.69	11.8	0.47	6.4	1.09	32.7
Mung	0.08	2.0	0.57	10.8	0.46	6.6	1.05	31.0
Red Gram I	0.24	6.2	0.29	11.1	0.45	7.3	0.90	31.9
Red Gram II	0.20	4.1	0.43	10.2	0.36	7.4	0.87	33.2
Harvested on Nov. 30, '32. (48 to 49 days.) 169 hrs. Sun-shine, Solar rad. 7,500 g. cal. per sq. cm. (44 per hr.)								
Control	1.05	15.6	0.63	6.8	1.05	26.7	2.81	49.3
Cowpea 600	1.44	33.4	1.02	11.5	1.65	55.5	4.11	100.4
Cowpea 602[1]	1.59	19.0	0.68	8.0	1.06	29.5	3.33	56.4
Dew Gram 34	1.16	19.7	0.92	8.6	1.44	38.9	3.52	67.2
Black Gram 2	1.21	16.7	0.87	8.7	1.38	29.6	3.46	55.0
Mung	1.04	18.0	0.78	6.8	1.18	29.0	3.00	53.8
Red Gram I[1]	1.84	22.0	0.79	9.0	1.25	35.9	3.88	66.9
Red Gram II	0.70	14.2	0.51	7.2	0.82	22.9	2.08	44.3

[1]) Free sand was not estimated in the root samples. Composition of Cotyledons in the Controls: Dry Matter 0.08 g.; Nitrogen 3.08%; Total Nitrogen 0.20 mg.

The first experiment was again repeated under low light intensity conditions and the periodical observations were recorded at still closer intervals. But the variety of red gram used this time was A. C. 218, New Era Strain D. from Hawaii Islands.

The results are given in Tables 3 and 4 and are also reproduced graphically in plates II.

Table 3 (Continued).

Harvested on Dec. 21, '32. (69 to 70 days.)
258 hrs. Sun-shine, Solar rad. 10,000 g. cal. per sq. cm. (39 per hr.)

Treatment	Roots		Stems		Leaves	
	Dry Wt. g.	Total N. mg.	Dry Wt. g.	Total N. mg.	Dry Wt. g.	Total N. mg.
Control[1]	2.49	28.34	1.39	8.70	1.08	20.59
Cowpea 600	1.29	35.96	1.30	27.73	1.46	65.09
Cowpea 602	1.41	27.42	0.98	12.54	1.27	37.36
Dew Gram 34	1.36	20.82	1.01	9.58	1.00	22.35
Black Gram 2[1]	2.37	26.33	0.86	6.18	0.86	14.80
Mung	1.03	16.81	0.76	7.69	0.91	14.57
Harvested on Jan. 6, '33. (Age 85—86 Days.) 328 hrs. Sun-shine, Solar rad. 12,000 g. cal. per sq. cm. (37 per hr.)						
Control	2.04	25.11	1.19	8.00	1.14	19.10
Cowpea 600	1.39	28.41	1.22	33.27	1.68	63.71
Cowpea 602	1.27	32.12	1.06	16.14	1.52	58.25
Dew Gram 34	1.51	21.75	1.05	8.42	0.93	16.93
Black Gram 2	1.25	16.99	0.86	5.93	0.82	14.02
Mung	1.06	19.53	0.82	10.17	1.09	37.34
Red Gram I	1.10	22.54	0.90	7.48	1.01	24.54
Red Gram II	1.10	19.00	0.96	7.72	0.87	19.92
Harvested on Jan. 29, '33. (Age 108—111 days.) 334 hrs. Sun-shine, Solar rad. 13,000 g. cal. per sq. cm. (41 per hr.)						
Control	1.34	17.78	0.96	3.75	1.13	4.32
Cowpea 600	1.33	37.16	1.58	52.92	1.39	55.02
Cowpea 602	1.35	26.84	1.65	37.54	1.83	62.89
Dew Gram 34	1.55	20.03	1.21	7.96	0.83	13.11
Black Gram 2	1.54	22.49	1.11	7.75	0.78	13.44
Mung	1.53	31.01	1.37	28.59	1.72	61.63
Red Gram I	1.39	29.12	1.05	8.42	0.95	22.74
Red Gram II	1.01	19.85	0.94	8.33	0.84	19.32

[1]) Free sand was not estimated in the roots. Cotyledons in Mung: Dry matter 0.05 g.; Total nitrogen 0.22 mg.

Compared with the conditions of light in the previous experiment, both its duration and intensity in the period covered by this experiment were considerably low, and even within this period, they were getting still lower towards its end.

The light intensity fell from 190 g. cal. per. sq. cm. per day in the beginning of the experiment to 125 g. cal. per. sq. cm. per day, by the end of it. The duration of light fell from 3.6 hrs. per day to 3 hrs. per day during this period.

The adverse influence of light was throughout reflected both in the performance of the crop and in the efficiency of the cultures.

The first visible sympton of nitrogen starvation, e. g. leaves becoming pale, was observed only after 70 days, as against 46 days in the previous experiment. This was probably, partly due to the lowered metabolic activity of the host plant consequent on the reduction of solar radiation and partly due to higher protein reserve in this variety of red gram seeds as pointed out elsewhere (loc. cit.). When the plants were inoculated with an efficient

Table 4. Daily Variations in the Duration and Intensity of Sunlight, Gram Plants at Different Stages of their Growth

Age Days	Sunshine Duration hrs.	Sunshine Intensity	Control Dry Wt. g.	Control Total N. mg.	Cowpea 600 Nodules	Cowpea 600 Dry Wt. g.	Cowpea 600 Total N. mg.	Cowpea 602 Nodules	Cowpea 602 Dry Wt. g.	Cowpea 602 Total N. mg.	Dew Gram 34 Nodules	Dew Gram 34 Dry Wt. g.	Dew Gram 34 Total N. mg.
1– 10	3.6	190	0.117	4.26	—	0.016	4.42	—	0.108	4.10	—	0.098	3.74
10– 17	2.9	177	0.016	0.92	—	0.006	0.63	—	0.001	1.14	—	0.030	1.52
17– 25	3.9	145	0.059	0.46	4.50	0.068	1.54	—	0.090	1.20	—	0.082	1.64
25– 34	3.8	153	0.060	0.71	7.00	0.069	– 0.36	0.89	0.047	0.24	—	0.073	– 0.63
34– 49	3.2	127	0.035	– 0.66	– 1.74	0.122	2.86	– 0.40	0.074[1])	– 0.29	—	0.068	0.78
49– 70	4.3	119	0.102[1])	0.40	– 0.05	– 0.003	1.35	0	0.016	1.10	—	– 0.072	– 0.69
70– 86	4.4	125	–0.037	– 0.34	0.75	0.045	– 0.21	0.38	0.012	1.71	0.19	0.075	– 0.36
86–110	0.3	71	–0.039	– 1.11	7.80	0.004	0.83	0.38	0.041	0.87	0.13	0.004	– 0.25

[1]) Free sand was not estimated in the roots.

Sunshine Intensity in g. cal. per sq. cm. Nodules per plant.

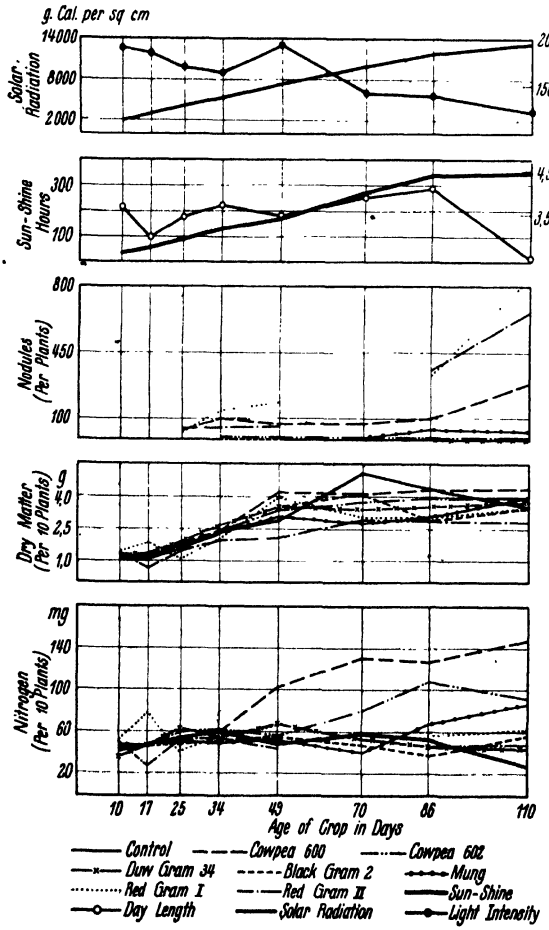


Fig. 2.

culture like Cowpea 600, all the leaves were dark green by the 85th day. Just like that observed in the previous experiment, the pale leaves from the top when treated with cultures, Cowpea 602, Mung and to a limited extent Black Gram 2, gradually acquired green colour; whereas the controls and those inoculated with poor strains like Dew Gram 34 were only yellowish green in colour.

The lag period between the sowing of the seeds, and the commencement of the formation of nodules, and that between the later and the high increase in nitrogen fixation, were both prolonged in all cases. So much so, the total ni-

Fig. 2. Strain variations in their rates of dry matter production, nodule formation and nitrogen fixation in red gram. (Hawaiien variety.)

Nodule Production, Dry Weight and Total Nitrogen Content of Red when Inoculated with Various Cultures.
ten Plants.

Black Gram 2			Mung			Red Gram I			Red Gram II		
Nodules	Dry Wt. g.	Total N. mg.	Nodules	Dry Wt. g.	Total N. mg.	Nodules	Dry Wt. g.	Total N. mg.	Nodules	Dry Wt. g.	Total N. mg.
—	0.117	4.73	—	0.135	4.80	—	0.135	5.11	—	0.135	5.01
—	0	0.16	—	0.027	−0.46	—	0.209	3.78	—	0.098	−3.26
—	0.072	0.06	—	0.075	0.97	3.50	0.094	−4.62	4.85	0.088	2.80
—	0.057	0.21	0.66	0.056	−0.23	11.60	0.910	1.78	1.23	0.056	0.71
—	0.081	0.28	−0.20	0.056	0.23	4.20	0.134[1])	0.70	0.47	0.011	−0.78
0.05	0.030[1])	−0.37	0	−0.019	−0.70	—	—	—	—	—	—
0	0.073	−0.71	2.26	0.014	1.75	3.94	−0.024	−0.34	7.95	0.025	0.06
0.25	0.021	0.70	−0.71	0.069	2.26	20.80	0.016	0.24	13.00	−0.006	0.04

[1]) Fre sand was not estimated.
Sunshine Intensity in g. cal. per sq. cm. Nodules per plant.

trogen contents of plants inoculated with almost all cultures, except the most efficient one, Cowpea 600, and partly with the culture, Cowpea 602, did not differ considerably from that of the control. Thus, in spite of very low and unfavourable light conditions, it was only the most efficient culture that could function and produce beneficial effect on the plant, while all the rest proved inefficient, although, in varying degrees.

The type of cyclic process in the fixation of nitrogen by the nodule bacteria, described previously was noticeable in the case of Cowpea 600 under the conditions of the present experiment also.

As in the previous case, up to the age of 34 days, there was not any considerable increase in the nitrogen fixed, and its values did not differ by much from that of the control, although nodulation actually commenced much earlier and the number attained a maximum value by this age. Again, a sharp increase in the amount of nitrogen fixed due to inoculation did not occur until some time after the maximum number of nodules were formed i. e., 49 days after the sowing. It will be seen that while the fixation was still going on even by the 49th day, its rate became less and it tended to remain constant between ages (70 to 80 days) of the crop. This fall is again followed by a very sharp increase in the rate and amount of nitrogen fixed by the 110th day.

An examination of the nitrogen content of the leaves, stems and the roots during the periods when the changes noted above were taking place, clearly indicate and lend support to the arguments advanced previously to explain this cyclic process. Only in this case, more nitrogen is transported into the roots at a high rate through the stems.

It would not be out of place here to refer to the observations of Bond who stated that with age the nitrogen fixing capacity of the nodules gradually falls off. He based his conclusions from the data with the assumption that the effectiveness or the nitrogen fixing capacity of nodule bacteria and the weight of the nodules move in the same direction. But the data presented here and elsewhere (3) overwhelmingly establish the fact that the number of nodules formed and the effectiveness of the culture do not always go hand in hand. Although in the present paper, the actual weight of nodules was

not compared with the nitrogen fixed, but taking the number and size of the nodules as important factors which go to make up their weight, then the premises of Bond's calculation and arguments are untenable.

Further, some ot Bond's own data for total nitrogen fixed, clearly indicate the cyclic process of fixation of nitrogen by the bacteria.

Some of the relevent figures from his data are reproduced.

Below.

Period days	1934 Fixation (apparent) by Bacteria mg. 5 plants	(Daily)
41— 54	28.6	(2.2)
54— 68	57.3	(4.1)
68— 82	37.9	(2.7)
82— 97	71.1	(4.7)
97—113	61.7	(3.9)

So far as the total dry matter in the plant is concerned, under these low light conditions in this season, the contribution of the cultures is practically nil, excepting in the case of the most efficient culture, Cowpea 600. The portion under the ground, however, did not suffer as much as did that above it. In the roots, the dry matter was greater in the control as well as in the inefficient cultures. In the case of efficient culture, Cowpea 600, however, the leaves contained more dry matter as well as nitrogen. Similar observations were noticed in the previous parts (loc. cit.).

Table 5. Daily Variations in the Duration and Intensity of Sunlight, Nodule Production, Dry Weight and Total Nitrogen Content of Horse Gram Plants at Different Stages of their Growth when Inoculated with Various Cultures.

Yield per ten plants.

Treatment	Age 0—40 days			Age 40—86 days		
	Nodules per plant	Dry weight g.	Total Nitrogen mg.	Nodules per plant	Dry weight g.	Total Nitrogen mg.
Control	–	0.03	0.43	—	0.009	– 0.18
Cowpea 600 . . .	0.40	0.03	0.48	0.17	0.008	0.23
Cowpea 602 . . .	3.90	0.04	0.91	0.59	0.015	0.43
Dew Gram 34 . .	1.30	0.03	0.42	2.35	0.021	0.44
Black Gram 2 . .	4.60	0.03	0.52	1.79	0.026	0.63
Black Gram 1 . .	4.90	0.04	0.70	– 0.48	0.014	0.30
Mung	3.30	0.03	0.71	1.42	0.019	0.46
Red Gram 1 . . .	6.50	0.04	0.90	1.87	0.003	0.07

Age Days	Sunshine per day Duration hrs.	Intensity g. cal. per sq. cm.
0—40	10.0	1,780
40—86	3.9	189

Horse gram.

The results of the experiment repeated with horse gram for comparative purposes are presented in table 5 and graphically in plate III.

Compared with the control, all cultures were efficient on this crop and of these cultures, Cowpea 602, Mung, Black Gram 2, Black Gram 1 and Red Gram I seem to be more so. In spite of the fall in light intensity and its duration, there was increased fixation of nitrogen in all cases.

The very small increase in nitrogen fixation in plants treated with some cultures like Red Gram I between age 40 to 96 days probably, represents only the effect of dormant phase in the activity of the bacteria in the cyclic process of nitrogen fixation pointed out earlier. This inference seems to find support from the fact, that in the case of the culture, Cowpea 600, a sharp fall occurred in the nitrogen content of the leaves during this period synchronizing with rapid transport of nitrogen into roots and stems as was observed in red gram plants inoculated with Cowpea 600. The fall in the nitrogen content of the leaves is reflected in their colour, changing from green to light green.

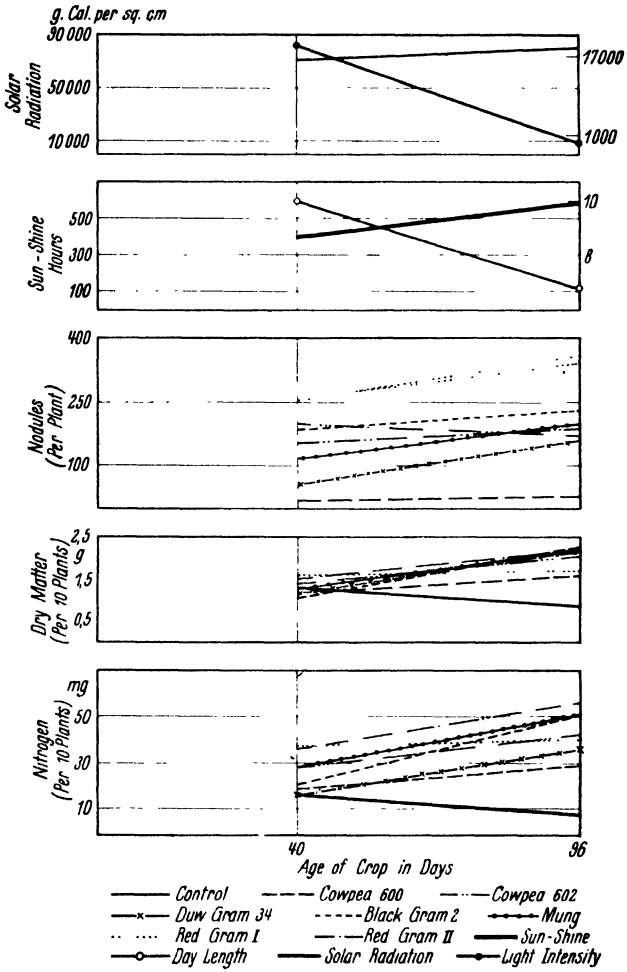


Fig. 3. Strains variations in their rates of dry matter production, nodule formation and nitrogen fixation in horse gram.

The changes in the colours of the leaves afforded a fair index of the relative efficiencies of the several cultures.

The changes observed in the colour of leaves from pale to green in the treatments with Cowpea 602, and Mung at the age of 69 and 85 days respectively was accomplished without any increase in the number of nodules produced on them. This demonstrates clearly that the efficiency of the culture was increased only after sufficient amount of photosynthesate had accumulated in the plant due to prolonged action of sunlight. The colour was green from the very beginning and became dark green on the 85 th day when inoculated with Cowpea 600.

In this experiment, as noted in red gram plants, in some cases the initial green leaves turned pale and remained as such for sometime, and again,

commenced thereafter to turn green. The time taken for the recovery of green colour varied inversely with the effectiveness of the culture.

The active fixation of nitrogen by bacteria does not appear to have commenced until after the reserve food in the cotyledons was almost completely exhausted and in some cases even nodule formation did not commence so long as the cotyledons contained reserve food in adaquate amount.

Summary.

(1) Experiments were conducted with red gram (Cajanus indicus Spreng.) and horse gram (Dolichos biflorus L.) under different light conditions with a view to elucidate how the culture and the host plant mutually react to each other at several stages in their development. The changes in the nitrogen content and the dry matter of the plant and their distribution in several parts of it were followed periodically.

(2) The fixation of nitrogen by nodule bacteria appears to be a cyclic process with alternate activity and dormancy.

(3) The leaves do not become pale until their nitrogen content falls below a certain limit.

(4) It was shown that there was a lag period between the sowing of the seeds and the commencement of nodule formation, and between the latter and the active fixation of nitrogen by the bacteria.

(5) The lag periods are prolonged with fall in the intensity of light, this is more marked with inefficient culture.

(6) The mechanism of utility of the biologically fixed nitrogen by bacteria was indicated to be similar to that when mineral or other form of nitrogen was supplied to the plant.

(7) It was suggested that the nitrogen fixed by the nodule bacteria first travelled to the leaf, the central seat of protein synthesis and then translocated to the other parts of the plant.

(8) The underground portions of the plant seems to have been benefitted more both in dry matter and nitrogen under deficient light conditions. When efficient cultures are used the dry matter in the leaves and the stem was higher than that in the roots.

Bibliography.

1. Bond, G., Annals of Botany. Vol. 50. 1936. p. 559—578. — 2. Raju, M. S., Proc. Assoc. Econ. Biol. C.B.E. India. Vol. 4. 1936. p. 24—32. — 3. Raju, M. S., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 99. 1938. S. 289—317.

Referate.

Bücher, Institutsberichte usw.

Klut, H., Untersuchung des Wassers an Ort und Stelle. 7. Aufl. Bd. 4. 201 S. m. 41 Abb. Berlin (Verlag Jul. Springer) 1938. Preis 8.70 RM.

Allein die Tatsache, daß das handliche Taschenbuch des bekannten Wasserfachmanns Hartwig Klut bereits in siebenter Auflage vorliegt, ist eine hinreichende Empfehlung.

Da die bakteriologischen Maßnahmen an Ort und Stelle nur beschränkt sind, ist das Kapitel „Bakteriologische Untersuchung" naturgemäß nur knapp. Das gleiche gilt für den Abschnitt über die „biologische Wasseruntersuchung".

Gegenüber der sechsten Auflage sind Umarbeitungen und Ergänzungen verschiedener Abschnitte vorgenommen worden wie z. B. der über die Wasserstoffionenkonzentration, über Metalle und Mörtel angreifende Wasser, über „schweres Wasser" u. a. Jedem wichtigen Abschnitte ist außerdem die entsprechende Literatur beigegeben, so daß auch genaueres Quellenstudium über den Rahmen dieses Taschenbuches hinaus leicht möglich ist.

Stapp.

Allgemeines und Methodisches.

Oesterle, P., Über die Ursache der hohen Dampfresistenz der Sporenerde. Der Einfluß der Schichthöhe. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 141. 1938. S. 187—194.)

Die sog. nativen Sporen des gedüngten Bodens besitzen eine bei weitem größere Hitzefestigkeit als die Kultursporen derselben Bazillenart. Durch Züchtung in erdehaltigen Nährmedien gelang wohl mehrfach eine Erhöhung der Resistenz der Kultursporen, doch wurde die Widerstandsfähigkeit der nativen Sporen in keinem Falle auch nur annähernd erreicht. Der mechanisch-schützende Einfluß, den die Erdteilchen bei großer Schichthöhe der Hitzewirkung entgegenstellen, ist von untergeordneter Bedeutung. Die Erdpartikelchen spielen nur die Rolle eines Keimträgers.

Die einzelnen Sporen ein und derselben Bazillenart in einer Erdprobe sind unter sich in ihrer Resistenz sehr unterschiedlich. Erst bei Anwendung einer Untersuchungsprobe von 3 g ist Gewähr für die Anwesenheit von Sporen gegeben, die gesättigten Wasserdampf von 120° mindestens 5 Min. überdauern.

Da gedüngte, verrottete Erde spezifisch leichte, auf Flüssigkeiten schwimmende Bestandteile enthält, ist sie als Testmaterial im Aufschwemmungsverfahren zur Prüfung der Kochresistenz und der sterilisierenden Wirkung von gelösten Substanzen nur unter Berücksichtigung bestimmter Vorsichtsmaßnahmen verwendbar.

Eine ebenso große Resistenz wie Bazillensporen zeigten Aktinomyzetensporen (120° bis zu 10 Min.). Sie kamen auffälligerweise oft erst nach Wochen in der nach der Sterilisation mit Bouillon übergossenen Erdprobe zur Entwicklung, in 2 Fällen erst nach 26 Wochen.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Jettmar, H. M. v., Über die sporozide Wirkung heißer Sodalösung. (Arch. f. Hyg. u. Bakt. Bd. 119. 1938. S. 223—244.)

Die mit quantitativ genau definierten, durch Filtration völlig homogenisierten Suspensionen von sehr hitzefestem Sporenmaterial (strömender Wasserdampf wurde bis zu 60 Std. ausgehalten) ausgeführten Untersuchungen über die sporozide Wirkung 1,5proz. Sodalösung ergaben folgendes: Bei Temperaturen bis zu 45° führte die Sodalösung selbst nach 4 Monate langer ununterbrochener Einwirkung nicht zur Abtötung. In kochendem Zustand tötete sie sämtliche Sporen in etwas über 1 Std.; ihre Wirkung war 20—40mal so stark wie die von kochendem Wasser. Ungefähr derselbe Unterschied bestand auch bei Temperaturen von über 100°.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Mündel, O., Was soll man von der siedenden Sodalösung als Verfahren für Instrumentensterilisation verlangen? (Arch. f. Hyg. u. Bakt. Bd. 120. 1938. S. 258—267.)

Bei Verwendung von 0,5 g Erde auf 200 ccm Sodalösung wurde Sterilität nach 20—30 Min. langem Sieden festgestellt. Die Prüfung größerer Erdmengen wird als ungerechtfertigt erklärt, da Instrumenten immer nur höchstens Spuren von Erde anhaften, wenn sie zur Sterilisation kommen.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Kliewe, H., „Zinol", ein neues Grobdesinfektionsmittel. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 141. 1938. S. 194—198.)

Ein Grobdesinfektionsmittel muß, außer einer hohen keimtötenden Kraft, vor allem noch folgende Eigenschaften besitzen: Unschädlichkeit für Hände und Wäsche, gute reinigende Wirkung, gute Benetzbarkeit, Mischbarkeit mit Wasser in jedem Verhältnis, angenehmen Geruch und Wirtschaftlichkeit. Diesen Forderungen entspricht Zinol im ganzen in weit höherem Grade als die jetzt gebräuchlichen Grobdesinfektionsmittel. Nur in seiner Desinfektionskraft wurde es von einigen Chlorpräparaten übertroffen, die jedoch in anderer Hinsicht dem Zinol weit nachstehen (Zersetzung an der Luft, geringe Haltbarkeit in wässerigen Lösungen, keine Schaumkraft, schlechte reinigende Wirkung, schädlicher Einfluß auf organische Stoffe).

Zinol ruft in 1proz. Lösung selbst bei 24 Std. langer Einwirkung auf die Haut keine Reizwirkung hervor, greift verzinnte, verzinkte, kupferne und Messinggegenstände nicht an (nur solche aus Eisen zeigten nach 48 Std. leichten Rostansatz), ebensowenig Ölfarbe, Leder, Linoleum, Steinplatten, Porzellan, Glas, Stoffe aus Leinen, Wolle, Baumwolle, Seide usw. Das Präparat hat einen angenehmen und wenig nachwirkenden Geruch, ist in dieser Hinsicht also namentlich den kresolhaltigen Desinfektionsmitteln überlegen. Dies ist insbesondere für die Raumentseuchung von Wichtigkeit.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virusuntersuchungen.

Piekarski, G., Zytologische Untersuchungen an Bakterien im ultravioletten Licht. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 142. 1938. S. 69—78.)

Kernähnliche Körper, sog. Nukleoide, sind bei Bakterien weitverbreitet. Sie kommen nicht nur bei den verschiedenen Bazillen und Bakterien im engeren Sinne vor, sondern auch als zentral gelegene Körper bei den Sarzinen. Der positive Ausfall der Nuklealreaktion sowie die Absorptionsverhältnisse dieser Körper im ultravioletten Licht von 0,275 μ Wellenlänge sprechen sehr dafür, daß die Körper Kernäquivalente darstellen.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Zeetti, R., Ricerche sull' azione a distanza dei metalli sui microorganismi. [Untersuchungen über die Fernwirkung der Metalle auf die Mikroorganismen.] (Riv. di. Biologia. Bd. 18. Heft 1. 1935. S. 70—80.)

Unter Anwendung der von Nadson und Stern angegebenen Technik hat Verf. die Wirkung verschiedener Metalle (Pb, Au, Ag, Cu) und ihrer Salze (PbO, Pb_3O_4, $CuSO_4$) auf einige Mikroben (Bac. prodigiosus, Sacch. cerevisiae, Bac. subtilis) studiert. Verschiedene

Ergebnisse der genannten Autoren hat Verf. bestätigen können, namentlich: Die betreffenden Metalle und Metallsalze üben eine hemmende Wirkung auf die Mikroorganismen aus; mit steigendem Atomgewicht erhöht sich auch die Wirkung der Metalle; unter der Wirkung von Pb und Au hat Bac. prodigiosus fast vollkommen pigmentlose Kolonien ausgebildet. Im Gegensatz zu den genannten Autoren hat aber Verf. eine bakterientötende Wirkung auf die Mikroben nie beobachten können. Die Technik von Burri benutzend, hat Verf. die Entwicklung der unter der Wirkung der Metalle ausgesetzten Mikroben auch mikroskopisch verfolgt, und ist zum Schluß gekommen, daß die Metalle die Reproduktionsprozesse der Mikroben verlangsamen, ohne sie aber abzutöten. Endlich wurden Versuche mit Bac. diphtericus gemacht, um zu sehen, ob seine Virulenz durch die Wirkung von Metallen herabgesetzt wird. Obwohl das Wachstum des Bakteriums in Kultur von den Metallen stark gehemmt wurde, ist seine Virulenz (geprüft in ihrer Wirkung auf Meerschweinchen) nicht geschwächt worden.

Pesante (Rom).

Schopfer, W. H., Aneurine et hétérotrophie chez les microorganismes. (Archiv f. Mikrobiologie. Vol. 9. 1938. p. 116—128.)

Eine kritische Zusammenfassung der bisher bekannten Beziehungen zwischen Mikroorganismen (einschl. Flagellaten) und Vitamin B_1 (Aneurin). Es werden 8 Gruppen unterschieden, in denen eine fortschreitende Reduktion der Fähigkeit zur Bildung von Vitamin B_1 bzw. seiner beiden Konstituenten, Thiazol und Pyrmidin, zu beobachten ist:

1. Typ: Höhere grüne Pflanzen: Vitamin B_1 wird synthetisiert.
2. Typ: Absidia glauca: Auxo-heterotroph; enthalten Vitamin B_1 bzw. seine beiden Konstituenten und entwickeln sich ohne diese.
3. Typ: Rhodotorula rubra: Thiazol ist vorhanden, Pyrmidin nicht.
4. Typ: Mucor Ramannianus: Pyrmidin ist vorhanden, Thiazol nicht.
5. Typ: Absidia ramosa, Parasitella simplex: Thiazol + Pyrmidin (äquimolekularer) wirken wie Vitamin B_1; aber Fähigkeit zur Bildung von Thiazol ist nur teilweise vorhanden.
6. Typ: Phycomyces, Staphylococcus aureus: Pyrmidin + Thiazol ersetzten Vitamin B_1 völlig.
7. Typ: Glaucoma pyriformis, Strigomonas oncopelti: Vitamin B_1 notwendig, aber nicht durch Pyrmidin + Thiazol ersetzbar.
8. Typ: Rhizopus-Arten: Zwar auxo-heterotroph wie Typ 2, aber Vitamin B_1 und seine beiden Konstituenten wirken schwach hemmend.

Rippel (Göttingen).

Gerber, B. A., Zur Frage des Milchzuckerabbauvermögens von Bacterium coli. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 141. 1938. S. 80—89.)

Es wurde das Säurebildungsvermögen von 200 frisch aus menschlichen Stuhlproben und 142 aus Wasserproben isolierten Colistämmen in einer von Reichenbach angegebenen Milchzuckerlösung bei 37° bestimmt: Alle aus Stuhlproben isolierten Stämme säuerten spätestens innerhalb von 72 Std. auf ein p_H unter 5,55. Von den aus Wasser stammenden Kulturen zeigten dagegen 33 ein merklich verzögertes (der p_H-Wert 5,55 wurde erst nach 5 bis 6 Tagen unterschritten), 13 sogar ein mehr oder weniger stark vermindertes Säuerungsvermögen. Lange fortgesetzte Züchtung in Milchzuckernährböden führten nur zum Teil zu besserer Leistung. Das geringe Säurebildungsvermögen wird als Folge schlechter Ernährungsbedingungen im Boden oder Wasser aufgefaßt.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Bredenbröker, Untersuchungen über die Möglichkeit einer Gruppenbildung bei den Colibazillen. (Arch. f. Hyg. u. Bakt. Bd. 119. 1938. S. 289—296.)

Es wurde versucht, innerhalb der pathogenen Coligruppe eine Typeneinteilung durchzuführen. Es gelang die Trennung in 12 serologische Typen. Eine Einteilung nach biologischen Eigenschaften war dagegen, wie zu erwarten, nicht möglich. Ein Viertel der Stämme zeigte Hämolyse.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Hayashi, K., Über die agglutinatorische Einteilung der Colibazillen. (Ztschr. f. Immunitätsforsch. u. exper. Therapie. Bd. 92. 1938. S. 118—121.)

Unter den Colibakterien gibt es offenbar zahllose serologische Typen, die nach ihrer Herkunft ganz verschieden voneinander sind. Z. B. ließen sich 118 aus typhösem Kot isolierte Stämme in 27 serologische Typen aufteilen. Von diesen waren jedoch nur 2 bei je 2 Stämmen von insgesamt 130 aus gesundem Kot gezüchteten Stämmen vertreten.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Staberow, O., Untersuchungen über kulturelles Verhalten typischer und atypischer Colibazillen. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 141. 1938. S. 130—148.)

Als für die Coligruppe typisch werden folgende Eigenschaften angesehen: Keine Färbbarkeit nach Gram, fehlendes Gelatineverflüssigungsvermögen, kein Wachstum auf Ammonzitratagar, Vergärung von Glukose unter Gas- und Säurebildung, Säurebildung aus Laktose. Stämme, die auf Endoagar weiß wachsen, im übrigen aber die Eigenschaften des typischen Coli aufweisen, werden als echte Coli aufgefaßt, die in ihrer fermentativen Leistung geschwächt sind („fermentschwache" Colibakterien). Es gelang mit ziemlicher Regelmäßigkeit, diese Keime durch Züchtung in laktosehaltigen Medien in ihrer fermentativen Leistung bis zur Norm zu steigern. Das fehlende Vermögen der Milchzuckersäuerung ist also nur als labiler Phänotyp zu werten. Die von anderen Autoren vertretene Einordnung als Übergangsformen zur Paratyphus-Enteritisgruppe wird deshalb abgelehnt.

„Paracoli"-Stämme im Sinne von Stutzer und Nissle, die aus Glukose kein Gas bilden, aber Milchzucker in festen Nährböden säuern, gehören nicht in die Coligruppe. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Dicker, H., Fusobakterien als echte Krankheitserreger beim Menschen. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 141. 1938. S. 37—44.)

Es wird erstmals der Beweis erbracht, daß Fusobakterien für sich allein nicht nur beim Tier, sondern auch beim Menschen als echte Krankheitserreger auftreten können. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Polónyi, P., Die endogene und die Kontaktdiphtherie. [Die pathogenetische Bedeutung der Kokken und Stäbchenform des Diphtherieerregers.] (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 141. 1938. S. 335—341.)

Das Diphtheriebakterium geht unter ungünstigen Bedingungen in die Kokkenform über, die durch Kultur und Tierversuch wieder zur Normalform zurückverwandelt werden kann. Die Diphtheriekokken kommen nach

Ansicht Verf.s regelmäßig im menschlichen Nasen-Rachenraum als Saprophyten vor und können infolge ihrer Wandlungsfähigkeit zur Entstehung einer endogenen Diphtherie führen.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Auerswald, H., Welche Mikroorganismen wirken auf Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen antagonistisch? Ein Beitrag zur Frage der Ursache der Hemmungswirkung des Speichels auf Diphtheriebazillen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 142. 1938. S. 32—41.)

Von den wichtigsten Bakterienarten, die auf antagonistische Wirkung gegenüber Diphtherie- und Pseudodiphtheriebakterien geprüft wurden, übten lediglich Sporenbildner aus der Mesentericus-Subtilis-Gruppe regelmäßig deutliche Wachstumshemmung aus. Da Sporenbildner im Speichel nicht gefunden wurden, kann der hemmende Einfluß von Speichel auf Diphtherie- und Pseudodiphtheriebakterien nicht durch die in ihm vorkommenden Bakterien verursacht sein.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Kuryłowicz, W., Die Stellung des Sklerombakteriums in der Gruppe der Kapselbakterien. (Ztschr. f. Immunitätsforsch. u. exper. Therapie. Bd. 93. 1938. S. 457—478.)

Durch Einwirkung dysgenetischer Faktoren (durch Bakteriophagen, Immunserum, Galle, Hungernährböden, gewisse chemische und physikalische Faktoren) können alle Arten aus der Kapselbakteriengruppe in die glatte und rauhe kapsellose Form übergehen. Jede kapsellose Glattform besteht aus den serologischen Abarten „α“ und „β“.

Die Rauhform eignet sich nicht zur Anstellung von Agglutinationsreaktionen, da sie selbstflockend ist. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Stoilowa, E., Untersuchungen an einem bisher noch nicht bekannten Anaerobier. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 141. 1938. S. 379—384.)

Beschreibung einer neuen aus der menschlichen Mundhöhle isolierten Art aus der Gruppe der sporenlosen Anaerobier. Die Grundform ist ein leicht gebogenes, nach den Enden zu dünner werdendes Stäbchen, erinnert also an die fusiformen Bakterien. In älteren Kulturen stärkste Neigung zu Involutionsformen (Blähformen und Fadenbildung). Beweglichkeit durch peritriche Begeißelung.

Obgleich Tierversuche bei den verschiedensten Infektionsmethoden keinerlei pathogene Eigenschaften des Keimes erkennen ließen, waren im Blutserum infizierter Meerschweinchen und im Peritonealexsudat infizierter Mäuse spezifische Reaktionsprodukte in Gestalt von agglutinierenden bzw. bakteriziden Antikörpern nachweisbar.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Jahnel, F., Über das Überleben von Syphilisspirochäten bei tiefster Temperatur (— 271,5°, 1,7° vom absoluten Nullpunkt entfernt). (Klin. Wochenschr. Jahrg. 17. 1938. S. 836—838.)

Versuche über die Einwirkung tiefster Temperaturen haben das überraschende Ergebnis gehabt, daß die an sich gegen physikalische und chemische Einflüsse ziemlich empfindlichen Syphilisspirochäten eine Temperatur von — 271,5° mindestens 2,5 Std. auszuhalten vermögen, ohne ihre Virulenz

einzubüßen. Aus Versuchen mit flüssigem Stickstoff zu schließen, bei denen die Temperatur von — 196° 14 Tage lang ohne merkliche Schädigung von Syphilisspirochäten überstanden wurde, dürfte auch die Temperatur von — 271,5° noch wesentlich länger ausgehalten werden. Vorläufig aber lassen sich diese an den absoluten Nullpunkt heranreichenden Temperaturen nur für wenige Stunden erzielen. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Lentze, F.-A., Zur Bakteriologie und Vakzinetherapie der Aktinomykose. I. Mitt. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 141. 1938. S. 21—35.)

Mit Einzellkulturen durchgeführte Versuche sprechen für einen Übergang der klassischen großmyzelialen anaeroben Aktinomyzeten in eine glattwachsende Form, die mikroskopisch den Corynebakterien gleicht. Zwischen beiden Formen bestanden biochemisch und serologisch grundlegende Unterschiede. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Schmidt-Lange, W., und Bucherer, H., Die Chitinolyse pathogener Aktinomyzeten. (Arch. f. Hyg. u. Bakt. Bd. 120. 1938. S. 304—308.)

Mitteilung über die Herstellung eines aus Krabbenschalen herstellbaren Chitinagars, auf dem nur Aktinomyzeten (pathogener und apathogener Art) wachsen. Durch Abbau des Chitins entsteht eine Aufhellung des milchig getrübten Nährbodens. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Lippelt, H., Zur Pathogenität der Blastomyzeten. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 140. Heft 3/8. 1937. S. 116—118.)

Beschreibung eines Hefestammes, der bei einem 60jährigen Mann in der Thoraxhöhle einen faustgroßen Tumor erzeugt hatte und durch Zerstörung der Wirbel in den Lumbalkanal und in das Hirnparenchym eingewandert war. Er besaß weder Gär- noch Sporenbildungsvermögen. Auf serologischem Wege gelang es nicht, eine Reaktion des Organismus auf den Krankheitsprozeß nachzuweisen; sowohl die Komplementbindungsreaktion als auch die Agglutinationsprobe des Krankenserums unter Verwendung von lebenden und abgetöteten Hefezellen als Antigen hatten ein völlig negatives Ergebnis.

In Tierversuchen erwies sich die Hefe gegenüber Kaninchen, Mäusen und Meerschweinchen als apathogen. Von 6 Ratten dagegen, die unter die Rückenhaut geimpft wurden, erkrankten 5 in der gleichen Weise wie der Patient. Es kam zur Entstehung eines Tumors und einer Meningitis sowie zum Befall des Hirnparenchyms.

Von anderen Patienten aus verschiedensten Materialien isolierte Hefen zeigten in 2 von insgesamt 16 Fällen (= 12%) Pathogenität gegenüber Ratten.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Hopp, H., Sporophore formation by Fomes applanatus in culture. (Phytop. Vol. 28. 1938. p. 356—358, 1 fig.)

Verf. konnte die Bildung von Sporophoren von Fomes applanatus in Kultur erreichen, wenn er kleine Blocks von Populus canadensis var. eugenie unter bestimmten Bedingungen hielt, und zwar mußte 1. eine bestimmte Luftzirkulation vorhanden sein, damit das Myzel ausreichende Sauerstoffmengen erhielt; 2. dem Myzel innerhalb des Substrates genügend Flüssigkeit zugeführt werden und 3. eine dauernde mäßige Austrocknung der Oberfläche des Myzels erfolgen, dadurch, daß der Holzblock zwar einer feuchten, aber nicht gesättigten Luft ausgesetzt wurde.

Winkelmann (Münster i. W.).

Oesterle, P. und Bräunert, R., Die Unterschiede im Keimgehalt der Luft in verschiedener Höhe über dem Arbeitsplatz unter Verwendung des löslichen Trockenfilters. (Arch. f. Hyg. u. Bakt. Bd. 120. 1938. S. 295—303.)

Es wurde die Verteilung der verschiedenen Keimarten in der Luft zweier verschieden gearteter Räume überprüft. Dabei ergab sich, daß in 10 cm Höhe über dem Arbeitstisch eines Raumes die Keimzahl der Luft merklich größer war als in höheren Lagen (z. B. fanden sich in 100 l Luft in 10 cm Höhe 78 Keime gegenüber 50 in 150 cm Höhe). Die Verteilung einzelner Keimarten innerhalb verschieden hoher Luftschichten eines Unterrichtsraumes ergab keine deutlichen Unterschiede.

Die Untersuchungen wurden mit Hilfe des von Oesterle beschriebenen (Arch. f. Hyg. u. Bakt. Bd. 113. 1934. S. 137) löslichen Trockenfilters durchgeführt, das auch für das Gärungsgewerbe von Bedeutung ist (zur Bestimmung der Leistungsfähigkeit der in den Kühlräumen vorgeschalteten Filteranlagen). Es ermöglicht die Keimzahlbestimmung in absoluter Hinsicht, da die durch das Filter gesogene Luftmenge mit einer Gasuhr ermittelt wird.

Wurde der Zugang zu einem bakteriologischen Arbeitsraum durch ein mit Karbolwasser getränktes Schleusentuch verhängt und wurden die Fenster luftdicht verschraubt, so ergab sich eine starke Verminderung der Keimzahl, insbesondere der Sarzinen, Aktinomyzeten und Schimmelpilze. Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Enzymologie und Bakteriophagie.

Schütz, F. und Theorell, H., Über das gelbe Ferment bei verschiedenen Bakterien. (Biochem. Zeitschr. Bd. 295. 1938. S. 246—251.)

Um einen Beitrag zu liefern zur weiteren Aufklärung der physiologischen Funktion des gelben Ferments, wurden verschiedene Bakterien auf synthetischen und anderen Nährböden unter aeroben und anaeroben Bedingungen gezüchtet und dann auf ihren Gehalt an gelbem Ferment bzw. Luminoflavin untersucht. Die Feststellung, daß fakultativ anaerobe Bakterien nach aerober wie anaerober Züchtung gleich viel gelbes Ferment enthalten, spricht für die Annahme einer nicht unmittelbaren physiologischen Reaktion desselben mit dem molekularen Sauerstoff. Die Reoxydation des gelben Ferments muß wenigstens bei Bac. Delbrücki durch irgendwelche Gärungsprodukte herbeigeführt werden. Versuche mit verschiedenen Zuckern weisen darauf hin, daß das gelbe Ferment nur unter Vermittlung anderer Katalysatoren mit dem Zucker reagiert. Es konnte einwandfrei bewiesen werden, daß B. coli commune imstande ist, Lactoflavin zu synthetisieren. Somit finden auch frühere Beobachtungen über den Einfluß der „Refäktion" eine einfache Erklärung, d. h. die Fähigkeit von Versuchstieren, Vitamin B-Mangel durch Fressen des eigenen Kotes aufzuheben.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Maschmann, E., Die Proteinase des B. prodigiosus, B. pyocyaneus und B. fluorescens liquefaciens. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 140. H. 3—8. 1937. S. 288—292.)

Während man nach früherer Auffassung die Bakterienproteinasen zu den Tryptasen rechnete und neuerdings (Oppenheimer, Gorbach, Wohlfeil) als Papainasen auffaßt, sind sie nach den Untersuchungen Verf.s mit hochgereinigten (peptidasenfreien) Proteinasen von Bact. prodigiosum, pyocyaneum und fluorescens liquef. Vertreter einer neuen Proteinasegruppe und zwischen den Papainasen und Tryptasen einzuordnen. Die erhaltenen Präparate zeigten gegenüber Gelatine und Klupein ein scharfes Wirkungsoptimum bei p_H 7. Bei den optimalen Be-

dingungen der Trypsin- und Kathepsin-Papainwirkung war die Wirkung der Bakterienproteinasen stark herabgesetzt. Ihre Nichtzugehörigkeit zu den Tryptasen bzw. Papainasen ergibt sich weiter aus der Nichtaktivierbarkeit durch Enterokinase bzw. das abweichende Verhalten gegenüber Substanzen, die als Aktivatoren und Inhibitoren der Papainasen wirken.
Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Tschistossjerdowa, G. W., Das Studium der Eigenschaften der Bakteriophagen von manchen phytopathogenen Bakterien. (Mikrobiologie. Bd. 7. Folge 1. 1938. S. 112—118.) [Russisch.]

Verf. isolierte aus faulen Kartoffeln viele Stämme von B. xanthochlorum. Diese variierten sehr in bezug auf die Säurebildung auf Glukose und in bezug auf die Gerinnung und Peptonisierung der Milch. Weiter wurde ein Bakteriophag von B. xanthochlorum isoliert. Alle Stämme von B. xanthochlorum werden durch die entsprechenden Bakteriophagen gelöst. Jedoch löst der Bakteriophag auch B. mori, B. atrofaciens und B. holci. Die Versuche, den Bakteriophagen auf bestimmte Bakterien zu „spezialisieren", blieben ohne Erfolg. M. Gordienko (Berlin).

Mikrobiologie der Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel.

Stutz, L., Über die Herstellung keimfreier Heringskonserven bei 120° (1 atü) und das Roheinbüchsen von Heringen. (Arch. f. Hyg. u. Bakt. Bd. 119. 1938. S. 361—364.)

Roh eingebüchstes Heringsfleisch in Tomatenmark konnte bei 120° steril gemacht werden und ergab eine gute Konserve, die sich nicht von der vorgekochten unterschied. Die Sterilisationsdauer betrug 20 Min. von dem Zeitpunkt an, bei dem im Dosenmittelpunkt 120° erreicht waren (thermoelektrische Messung). Die Durchwärmungszeit betrug 90 Min. Im Dosenmittelpunkt befand sich ein Testsporenpäckchen.
Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Feldmann, R. I., Lischanskaja, B. B., Rubanowitsch, A. A. u. a., Die Methode zur Beurteilung der Konsumqualität von Sauerkraut. (Arb. d. sanitär-hyg. Abt. d. Ernährungsinst. Kiew.) (Probleme d. Ernährung. Bd. 7. Folge 2. 1938. S. 109—125.) [Russisch.]

Das Studium vieler Proben von Sauerkraut zeigte, daß zur Beurteilung seiner Konsumqualität folgende Daten maßgebend und wichtig sind: 1. die Gesamtzahl der Bakterien in 1 ccm Lake; 2. das quantitative Verhältnis Bakterien : Hefe (B : H); 3. deren H_2S-Titer und 4. der prozentuale Milchsäure- und Alkoholgehalt. Bei gutem Sauerkraut stellt sich die Gesamtzahl der Bakterien auf 700—2420 Millionen/1 ccm Lake und H : B von 1 : 80 bis 1 : 217. Die Mikroflora besteht überwiegend aus Milchsäurestäbchen, der Milchsäuregehalt schwankt von 1,07—1,26%, der H_2S-Titer beträgt 0—10^{10}. Bei schlechtem Sauerkraut stellt sich die Bakterienzahl auf 240 bis 640 Millionen/1 ccm Lake, H : B auf 1 : 3 bis 1 : 35, der H_2S-Titer auf 10^{70}—10^{20}; Milchsäurebakterien sind wenig aktiv, es sind viele andere Bakterienarten vorhanden. M. Gordienko (Berlin).

Pels Leusden, Fr., Bakteriologische Untersuchungsergebnisse anläßlich der Pinneberger Scharlachepidemie. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 140. Heft 3/8. 1937. S. 90—93.)

Im April 1937 brach in Pinneberg eine Scharlachepidemie aus, die von einem Kind mit Scharlachnephritis ausging. Die Mutter, die das Kind pflegte, übertrug die Erreger durch Melken auf Milch. Durch diese wurde dann die gesamte Milch einer Sammelmolkerei infiziert, die nicht pasteurisierte. Bei einem Milchverteiler fand noch eine Superinfektion statt; in seiner Kundschaft traten die meisten Erkrankungen auf. Insgesamt sind 450 Erkrankungen vorgekommen, davon 8 mit tödlichem Ausgang.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Yale, M. W., Standard agar counts as compared with counts on improved agars at 32° C. Abstr. (66. Ann. Meeting Labor.-, Food and Nutr.-Sect. Am. Publ. Health Ass., New York 1937.)

Es ist beabsichtigt, einen verbesserten Agar und günstigere Bebrütungstemperaturen für das Plattenverfahren bei der bakteriologischen Untersuchung von Milchprodukten einzuführen. Dieser Agar enthält 0,5% Trypton (hydrolisiertes Kasein), 0,1% Glukose, 0,5% Magermilch und 1,5% Agar. Von 91 Laboratorien wurden Vergleichsversuche mit dem offiziellen Standard-Nähragar durchgeführt. Die eingegangenen Berichte besagen, daß die Kolonien auf dem Tryptonmedium größer und daher leichter auszuzählen waren als auf dem Standardagar. Frayer fand, daß die Keimzahl auf Tryptonagar bei 32° weniger Schwankungen aufweist als auf Standardagar bei 37°. Curtis und Hileman konnten feststellen, daß die Verwendung von Trockenmagermilch im neuen Agar einen größeren Einfluß auf die Keimzahl hat als die abgeänderte Bebrütungstemperatur. Jedenfalls ist sicher, daß die abgeänderte Methode einen größeren Unterschied zwischen wirklich guter und wirklich schlechter Qualität ergibt als die bisherige offizielle Methode. Bei wirklich guten Milchen ist die mit dem neuen Verfahren erhaltene zahlenmäßige Zunahme der Kolonien so gering, daß sie praktisch keine Rolle spielt. Die Variabilität dürfte ebenfalls eine weit geringere sein.

L. Eisenreich (Weihenstephan).

Pont, E. G., and Sutton, W. S., The p_H of N. S. W. butter and its relationship to bacterial and yeast counts. (Journ. Austral. Inst. of Agr. Sci. Vol. 4. 1938. p. 96—99.)

Es wurden während 1½ Jahren Untersuchungen darüber angestellt, inwieweit bei Neusüdwales-Lagerbutter die Wasserstoffionenkonzentration der Butterlake Beziehungen aufwies zum Bakterien- und Hefengehalt sowie zur Qualität der Butter. Die Proben waren zur Zeit der Untersuchung ungefähr 14 Tage alt. Von den 183 untersuchten Proben konnten auf Grund kleiner Geschmacksfehler 114 abgesondert werden. Ergebnisse: Es ließen sich keine engeren Beziehungen zwischen der Bakterien- und Hefenzahl und dem jeweiligen p_H der Butterlake feststellen. Die Mehrzahl der Butterproben hatte ein p_H von annähernd 7,4. Auch bei getrennter Untersuchung der beiden Qualitätskategorien ergab sich nichts Besonderes. Wenn während der letzten 10 Jahre das Neutralisieren des Rahmes allgemein auf 0,15% (als Milchsäure berechnet) durchgeführt wurde, so hat man sich neuerdings auf 0,5—0,1% geeinigt. Die dagegen vorgebrachten Bedenken (mit dem Hinweis, daß die neutrale Reaktion einen Gefahrenpunkt für die Butterqualität bedeute) fußen auf der Annahme, daß die Alkalität des Butterserums einen Abbau des Butterfettes und ein rasches Wachstum der Fäulnis erregenden Bakterien zur Folge habe, was aber nach den vorstehenden Ergebnissen nicht der Fall ist. K. J. Demeter (München-Weihenstephan).

Hanson, F. E., Spicer, D. W., and Price, W. V., Observations on the splitting of brick cheese. (Journ. of Dairy Sci. Vol. 21. 1938. p. 433—444.)

In der kühleren Jahreszeit wurde des öfteren beobachtet, daß Backsteinkäse im Alter von 7—14 Tagen starke Gasbildung aufwies, wobei die gebildeten Gaslöcher so groß waren, daß der Käse gespalten wurde. Der Fehler trat entweder nur in einem Teil des Käses oder im ganzen Käse auf. Vielfach besaßen solche Käse einen faden metallischen Geschmack, und zwar oft schon, bevor Gas gebildet wurde, mitunter aber auch ein eher angenehmes süßes Aroma. Am häufigsten trat der Fehler im Winter und in den ersten Frühjahrsmonaten auf. Die gasbildenden Mikroorganismen konnten nicht festgestellt werden. Verff. vermuten, daß sie bereits bei der Gewinnung in die Milch gelangen; denn durch die Pasteurisierung konnten sie nicht ausgeschaltet werden. Es gelang jedoch, drei Faktoren zu erkennen, mit deren Zusammentreffen das Auftreten dieses Fehlers vorzugsweise gekoppelt war, nämlich geringer Salzgehalt, zu große Käse und Mangel an Säurebildung. K. J. Demeter (München-Weihenstephan).

Möller, E. F., Vitamin B_6 (Adermin) als Wuchsstoff für Milchsäurebakterien. (Ztschr. Physiol. Chem. Bd. 254. 1938. S. 285—286.)

Das in Silagen und eingesäuerten Gemüsen vorkommende Bact. acetylcholini Keil (= Streptobact. plantarum Orla-Jensen) benötigt außer den üblichen Salzen und Zucker mindestens 10 Aminosäuren und Laktoflavin. Dazu sind noch zwei weitere unbekannte Faktoren nötig, nämlich 1. eine ätherlösliche, säure- und alkalilabile, N-haltige Säure, 2. ein säure- und alkalistabiler, hoch thermoresistenter Faktor. Der letztgenannte ließ sich aus Hefeautolysat, sog. „Bevitrat"-Präparat und einem B_6-Konzentrat der J. G. Farbenindustrie gewinnen. Mit einem Aderminchlorhydrat ergab sich die gleiche Wirksamkeit, wie mit dem auf ganz andere Weise aus Hefe hergestellten Aderminpräparat. Stoffe, die das Adermin hätten ersetzen können, wurden nicht gefunden. Das Adermin erwies sich übrigens nicht nur für Milchsäurebakterien wichtig, sondern auch für Hefen. K. J. Demeter (München-Weihenstephan).

Schädigungen der Pflanzen durch physikalische, chemische und physiologische Einflüsse.

Ovinge, A., Kwade Harten-Proeven in Zeeland in 1937. [Herzfleckigkeits-Versuche in Zeeland in 1937.] (Tijdschr. o. Plantenz. 1938. S. 208—213.)

Verf. setzt hiermit die in 1935 und 1936 angefangenen Versuche über Herzfleckigkeit bei „Schokker"-Erbsen fort. Erneut wurde festgestellt, daß eine größere Dosis $MnSO_4$ (75/100 Kg pro Hektar) imstande ist, dem Auftreten der Krankheit vorzubeugen. Bespritzungen mit 1‰ $MnSO_4$-Lösung vor der Blüte konnte das Auftreten der Krankheit um 50% herabsetzen, besser noch erwies sich eine dreimalige Bespritzung mit derselben Lösung, davon zweimal nach der Blüte. Die Ernte wurde jedoch durch die Behandlung nur wenig beeinflußt. van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Baudyš, E., Die gesundheitliche Bedeutung des Bors für die Pflanze. [Zdravotný význam bóru pro rostlinu.] (Zemědělsky zpravodaj, Dezember 1937.)

Mangel an Bor im Ackerboden erhöht bei vielen Pflanzen die Anfälligkeit für manche Krankheit, so z. B. bei der Zuckerrübe (Trockenfäule), beim Apfelbaum (Schorf) und bei vielen anderen. Das Vorhandensein der genügenden Bormenge wirkt bei einer großen Anzahl von Pflanzen stimulierend auf das Wachstum und den Ertrag. Die Bordüngung ist bloß bei jenen Böden überflüssig, die aus Turmalin entstanden sind. In allen anderen Fällen soll auch mit Bor gedüngt werden, was am besten durch Bor-Superphosphat (Gemisch von Superphosphat mit 5% Borax) geschieht.

Bojanovsky (Brünn).

Lafon, J., Etude, préparation et emploi d'un sel de fer efficace contre la Chlorose. (Revue de Viticulture. Vol. 89. 1938. p. 65—68.)

In der Charante werden seit einigen Jahren Versuche angestellt, die Chlorose der Reben durch Bepinseln der Schnittflächen mit 25 proz. Eisensulfatlösung, der 6% Zitronensäure zugesetzt werden, zu bekämpfen. Der Erfolg war gut, denn die Erträge betrugen in der Kontrollparzelle 54, in der Parzelle mit Eisensulfat 63 und in der Zitronensäure-Eisensulfatparzelle 80 hl/ha. Die Zitronensäure soll hierbei einerseits das Eisensulfat in Lösung halten, auch wenn es mit Kalk in Berührung kommt, andererseits soll sie die Oxydation des Eisensulfats verhindern. Für die Praxis empfiehlt es sich, Salze in konzentrierten Lösungen bereit zu halten.

K. Müller (Freiburg i. Br.).

Baudyš, E. und Mrkos, I., Das Verwelken der Kartoffeln (Vadnutí brambor). [Vorl. Mitt.] (Bramborářství a průmysl. 1937. Nr. 3.)

Bereits seit Ende 1921 wurde in gewissen Teilen Mährens, namentlich in Südostmähren und den angrenzenden Teilen der Slowakei ein starkes Verwelken der Kartoffeln beobachtet, das in den Jahren 1932—1935 einen geradezu epidemischen Charakter annahm. Es handelt sich um eine physiologische Krankheit, die durch atmosphärische Einflüsse hervorgerufen wird. Genaue Untersuchungen haben gezeigt, daß ein schädlicher Einfluß auf die Knollen sich bereits dann geltend macht, wenn die Bodentemperatur mehrere Tage hindurch mindestens 38—40° C erreicht. Dann pflegt die Luftfeuchtigkeit derart zu sinken, daß die Wurzeln nicht mehr die von den Blättern benötigte Feuchtigkeit liefern können. Die Pflanze verkleinert also ihre Verdunstungsfläche durch Verwelken, wie sie es auch während der Trockenzeit in ihrer tropischen Heimat tut. Dort kann sie aber nachher weiterwachsen, während dies bei uns im Herbst nicht mehr möglich ist. Die so geschädigte Pflanze wird dann häufig sekundär von Parasiten (Verticillium albo-atrum, Fusarium) befallen. Zur Vermeidung der Krankheit wird vor allem empfohlen, in Gegenden mit heißen und trockenen Sommern keine Spätkartoffeln zu ziehen, sondern frühreife Sorten, wie sie in den südeuropäischen Mittelmeerländern gepflanzt werden. Das Feld soll zur Erhaltung der Winterfeuchtigkeit im Herbst tief gepflügt und die tiefen Furchen den Winter über stehengelassen werden. Bojanovsky (Brünn).

Schädigungen der Pflanzen durch Pilze, Bakterien und filtrierbare Vira.

Petersen, G. A., Perithecial material of Erysiphe and Microsphaera on Trifolium pratense. (Mycologia. Vol. 30. 1938. p. 299—301.)

Bis 1921 war Mehltau auf Rotklee im Osten der Vereinigten Staaten

sehr selten, 1922 trat er erstmalig stark auf. Perithezien waren bis dahin nur einmal gefunden worden. 1937 fand Verf. das Perfektstadium von Erysiphe polygoni und Microsphaera alni an Rotklee in Ithaka. Die letztgenannte Mehltauart war vorher niemals auf Klee beobachtet worden. Schultz (Berlin-Dahlem).

Ainsworth, G. C., Oyler, E., and Read, W. H., Observations on the spotting of tomato fruits by Botrytis cinerea Pers. (Ann. Appl. Biol. Vol. 25. 1938. p. 308—321.)

Es werden ringförmige Flecken auf Tomatenfrüchten beschrieben, die nicht wie andere mehr oder weniger ähnliche Flecken durch Blattlausstiche, Bakterien oder noch unbekannte Ursachen hervorgerufen werden, sondern durch Botrytis cinerea. Die Sporen dieses Pilzes gelangen auf die Früchte und keimen bei vorübergehend großer Feuchtigkeit aus. Die Keimschläuche dringen durch die Epidermis ein und erzeugen durch Absonderung von Pektinase in das umgebende Gewebe die typischen ringförmigen Flecken. Bei nachfolgender Trockenheit stirbt der junge Pilzkeimling ab, ohne größere Schäden angerichtet zu haben, und es ist dann später nicht mehr möglich, aus den markierten Stellen einen Pilz oder sonstigen Erreger zu isolieren. Die Flecken konnten auch durch künstliche Infektion erzeugt werden mit der erwähnten verbreiteten Art sowohl als auch mit anderen Botrytis-Arten, jedoch nicht mit Pilzen anderer Gattungen, die imstande sind, Tomaten anzugreifen. Aus dem Umstande, daß zur Entstehung der Flecken Botrytis-Sporen und große Feuchtigkeit vorhanden sein müssen, ergibt sich die Bekämpfungsmöglichkeit, die darin besteht, daß die Keimung der Sporen durch gute Lüftung der Kulturen nach Möglichkeit verhindert wird. Bortels (Berlin-Dahlem).

Bliß, B. E., Two new species of Omphalia which cause decline-disease in date palms. (Mycologia. Vol. 30. 1938. p. 313—326.)

Als Ursache der „decline-disease" der Dattelpalmen wurden zwei neue Species, Omphalia pigmentata sp. n. und O. tralucida sp. n., ermittelt, für die die Beschreibungen angegeben werden. Die im Freien nicht erfolgende Bildung der Fruchtkörper gelang im Gewächshaus bei 26—31° C und 92—98% rel. Luftfeuchtigkeit. Schultz (Berlin-Dahlem).

Goidànich, G., Notizie su una malattia della vite poco conosciuta. [Über eine wenig bekannte Krankheit der Rebe.] (Rendic. R. Acc. Naz. Lincei. Bd. 26. Heft 3—4. 1937. S. 107—112.)

Eine bisher in Italien unbekannte parasitäre Krankheit ist in der Prov. Triest 1937 erschienen. Die kranken Pflanzen zeigen eine Nekrose der Stengelgewebe. Der Erreger, welcher mit Fusicoccum viticolum Redd. vielleicht identisch ist, wird vom Verf. Phomopsis viticola genannt. Pesante (Rom).

Harter, L. L., Mosaic of Lima Beans (Phaseolus lunatus macrocarpus). (Journ. Agric. Res. Vol. 56. 1938. p. 895—906.)

Die Mosaikkrankheit der Lima-Bohne, welche Ähnlichkeit hat mit der Mosaikkrankheit der Gurke und Sellerie, wird beschrieben. Die Krankheit

unterscheidet sich hauptsächlich durch ihre spezifischen Symptome an den verschiedenen Wirtspflanzen.

Die folgenden Varietäten der Lima-Bohne wurden als empfänglich für die Krankheit befunden: Jackson Wonder, Hopi, Florida Speckled, Florida Butter, Henderson Bush, Woods Prolific, Willow Leaf und Sieva. Die widerstandsfähigen Varietäten waren: Burpee Best, Burpee Improved, Carpentaria, Chalenger, Detroit Mammoth, Dwarf Large White, Dreer Bush, Early Jersey, Fordhook, King of the Garden, Leviathan, Large White, McCrea, New Wonder und Seibert.

Das Lima-Bohnen-Virus unterscheidet sich deutlich von dem Gurkenvirus in seinen Symptomen, ferner durch einige physikalische Eigenschaften, wie Wirksamkeit in vitro und Unwirksamkeit nach dem Erhitzen. Das Virus unterscheidet sich jedoch nicht hinreichend von dem Gurkenvirus, um als bestimmt verschieden bezeichnet werden zu können. Verf. schließt daher, daß das untersuchte Virus als ein Lima-Bohnen-Mosaik-Virusstamm des Gurkenvirus zu bezeichnen ist. Gößwald (Berlin-Dahlem).

Giddings, N. J., Studies of selected Strains of Curly Top Virus. (Journ. Agric. Res. Vol. 56. 1938. p. 883—894.)

4 Stämme des Erregers der Kräuselkrankheit wurden auf Grund verschiedener Reaktionen auf Zuckerrübenpflanzen festgestellt. Als Grundlage für einen Vergleich diente die Prozentzahl der befallenen Pflanzen und die Sicherheit der Symptome. Rüben der widerstandsfähigen Reihe 1167 zeigten eine ganz spezifische Reaktion gegen jeden der 4 Virusstämme. Die empfindlichen Rüben ergaben Reaktionen, welche Stamm 1 von 2, Stamm 1 von 3, Stamm 1 von 4, Stamm 2 von 3 und Stamm 3 von 4 unterschieden. Die Virusstämme 2 und 4 konnten auf den empfindlichen Testpflanzen nicht getrennt werden.

Bei den empfindlichen Pflanzen verursachten die Virusstämme 1 und 3 deutliche Symptome, während die Virusstämme 2 und 4 nur schwache Symptome hervorbrachten. Die Prozentzahl der infizierten empfänglichen Pflanzen war gegenüber allen 4 Virusstämmen gleich.

Bei Pflanzen der widerstandsfähigen Linie 1167 verursachte der Virusstamm 1 deutliche, aber nicht starke Symptome, aber die Stämme 2, 3 und 4 bewirkten nur undeutliche Symptome. Der Prozentsatz der infizierten widerstandsfähigen Pflanzen war bei den Virusstämmen 1 und 2 hoch, bei den Stämmen 3 und 4 sehr niedrig.

Die virulenteren Stämme 1 und 3 waren leicht zu unterscheiden von den weniger virulenten Stämmen 2 und 4 bei Impfung von Tabak oder Tomaten. Aber diese Wirtspflanzen unterscheiden nicht die Stämme 1 von 3 oder 2 von 4.

Die Bohnenvarietäten, ebenso wie Plantago erecta und Lepidium nitidum, ergaben keine hinreichenden Merkmale zur Unterscheidung von Stamm 1 und 3, obwohl bei Lepidium ein deutlicher Unterschied im Prozentsatz der befallenen Pflanzen zu erkennen war.

Die Versuche zeigen, daß der Erreger der Kräuselkrankheit in verschiedenen Stämmen vorkommt, welche verschieden infektiös sind und verschiedene Wirtspflanzen befallen. Gößwald (Berlin-Dahlem).

Ingram, J. W., and Summers, E. M., Transmission of Sugarcane Mosaic by the Green Bug (Toxoptera graminum Rond.). (Journ. Agric. Res. Vol. 56. 1938. p. 537—540.)

In früheren Mitteilungen wurde Aphis maidis Fitch. (Blattlaus) als Überträger der Zuckerrohr-Mosaik-Krankheit erwähnt. Ebenso überträgt Hysteroneura setariae Thos. (Blattlaus) diese Krankheit. Ferner wurden Fälle der Übertragung der Mosaikkrankheit durch die Grüne Blattlaus Toxoptera graminum Rond. erwähnt.

T. graminum ist überall verbreitet. Diese Art wird in fast allen Ländern der Vereinigten Staaten von Amerika gefunden und verursacht beträchtlichen Schaden. F. graminum ernährt sich an Zuckerrohr und an benachbarten Gräsern.

Durch Infektionsversuche stellte sich heraus, daß T. graminum gewöhnlich nicht so ausgiebig die Mosaik-Krankheit überträgt wie die beiden anderen erwähnten Aphiden, daß sie jedoch in bestimmten Feldern der wichtigste Überträger sein kann. Göß wald (Berlin-Dahlem).

Tompkins, C. M., and H. Rex Thomas, A Mosaic disease of Chinese Cabbage. (Journ. Agric. Res. Vol. 56. 1938. p. 541—551.)

Die Mosaik-Krankheit von chinesischem Kohl (Brassica pe-tsai), welche in Kalifornien vorherrschend während der Herbst- und Wintermonate verbreitet ist, wird beschrieben. Die Merkmale der Krankheit bestehen in einer Aufhellung der Blattadern und in einer allgemeinen Sprengelung, mit geringer oder keiner Verdrehung der Blätter.

In Gewächshäusern wurden Übertragungen erreicht durch mechanische Impfungen, ferner durch natürliche Übertragung durch die Kohlaphide Brevicoryne brassicae und durch die grüne Pfirsich-Aphide Myzus persicae. Samenübertragungsversuche ergaben ein negatives Resultat.

Das Virus war noch infektiös nach einer Lagerung von 3 Tagen bei 22° C, ferner nach einer 10 Min. langen Behandlung in einem Wasserbad von 73° C und auch noch nach einer Verdünnung von 1 : 5000.

Lokaler Befall wurde erzielt an Nicotina glutinosa und N. tabacum, aber abgesehen von diesen ist der Wirtsbereich auf die Cruciferen beschränkt. Göß wald (Berlin-Dahlem).

Tierische Schädlinge.

Christie, J. R., Two distinct strains of the Nematode Aphelenchoides fragariae occurring on Strawberry Plants in the United States. (Journ. Agric. Res. Vol. 57. 1938. p. 73—80.)

Wenn Erdbeeren, welche die typischen Merkmale des Sommer-Zwergwuchses („Summer dwarf") aufwiesen, von Nordkarolina nach Wareham, Mass., verpflanzt wurden, behielten sie größtenteils sowohl ihre Krankheitssymptome wie ihre Nematoden-Population durch die restliche Vegetationsperiode bei. Wurden Erdbeerpflanzen, die bei Wareham gewachsen waren, im Frühsommer künstlich mit Aphelenchoides fragariae [Ritzema Bos (1891), Christie (1932), Nematode, Fadenwurm)] von Pflanzen aus dem Süden infiziert, so entwickelten sich sehr stark die typischen Symptome des Sommer-Zwergwuchses im Juli und August. In keinem Fall wurde die Krankheit wieder während der folgenden zwei Sommer erkannt und gegen Ende des dritten Sommers hatten die Pflanzen gänzlich ihre Infektion verloren. In der nördlichen Klimazone war keine Tendenz zu einem Saisonwechsel zu beobachten, aber gleichwohl verschwanden die Symptome nach

dem ersten Sommer, womit die allmähliche Ausrottung der Nematoden zum Ausdruck kommt.

Wurden Erdbeerpflanzen, welche die typischen Frühlings-Zwergwuchs-Symptome aufwiesen, von Falmouth, Mass., nach Willard, N. C., verpflanzt, so wurden weder die Merkmale, noch das jahreszeitlich gebundene Erscheinen der Krankheit geändert, abgesehen von dem Umstand, daß die Krankheit viel früher im Jahre auftrat. Pflanzen, die bei Willard gewachsen waren, und künstlich mit Nematoden von Cape Cod infiziert wurden, verhielten sich ähnlich. Nach zwei Sommern war im südlichen Klima keine deutliche Verminderung der Nematoden-Population festzustellen.

Verf. schließt daraus, daß der Frühjahrs- und Sommer-Zwergwuchs der Erdbeerpflanzen durch zwei verschiedene Stämme von Aphelenchoides fragariae hervorgerufen wird, die sich nicht morphologisch, wohl aber physiologisch unterscheiden lassen. Göß wald (Berlin-Dahlem).

Hodson, W. E. H., The Stem and Bulb Eelworm, Anguillulina dipsaci (Kuhn), in Strawberry in Britain. (Ann. Appl. Biol. Vol. 25. 1938. p. 406—410.)

Auf den Befall von Erdbeeren mit Anguillulina dipsaci (Nematode, Älchen) in England wird hingewiesen, und die Literatur über das Vorkommen in Amerika und England vermerkt. Die Merkmale der Krankheit werden beschrieben, Bekämpfungsmittel erörtert. Am wichtigsten ist Vorbeugung gegen Weiterverschleppung der Krankheit: von kranken Pflanzen sollen keine Ableger gewonnen werden. Göß wald (Berlin-Dahlem).

Zillig, H., Der Eichenprozessionsspinner (Thaumetopoea processionea L.) als Gelegenheitsschädling an Weinreben. (Anz. f. Schädlingskde. Jahrg. 14. 1938. S. 61—62.)

Nach gänzlichem Kahlfraß anliegender Eichenbestände, wobei sogar junge Rotfichten (Picea excelsa Link.) aus Nahrungsmangel angefressen waren, wanderten die Raupen des Eichenprozessionsspinners Thaumetopoea processionea L. auf Weinreben über und richteten erheblichen Schaden an in den ersten Reihen des Weines. Zur Abwehr ist die Bespritzung mit 0,15proz. Rohnikotinlösung geeignet. Die angrenzenden Waldbestände sollten wenigstens am Rand mit Arsen geschützt werden, um ein Überwandern der Raupen in die Weinberge zu verhindern. Göß wald (Berlin-Dahlem).

Farsky, O., Nonnenkontroll- und Vorbeugungsmethode nach Professor Forst.-Ing. Dyk. (Anz. f. Schädlingskde. Jahrg. 14. 1938. S. 65—67 und 52—56.)

Nach einem kurzen Überblick über die wichtigsten bisherigen Ergebnisse auf dem Gebiet der Geruchsphysiologie der Lepidopteren geht Verf. auf das alte Problem der Anlockung männlicher Schmetterlinge durch den weiblichen Sexualduft ein. Bereits Dyk war zu dem Ergebnis gekommen, daß die Ausnutzungskraft frisch geschlüpfter Nonnenweibchen auf die Männchen der gleichen Art für den Forstschutz von größter Bedeutung sein kann, und zwar 1. zur Feststellung der Anwesenheit der Nonne, 2. als Ersatz für das mühevolle Suchen der Falter in den Waldbeständen. Dyk ist von folgender Erwägung ausgegangen zur Frage, ob durch das Wegfangen der Männchen auch ein praktischer Erfolg erzielt werden könne. a) Die Annäherung der Geschlechter wird durch den Duft des jungfräulichen, frisch geschlüpften Weibchens vermittelt. b) Die Weibchen müssen verhältnismäßig kurze Zeit nach dem Schlüpfen ihre Eier los werden, selbst dann, wenn diese nicht befruchtet werden. c) Unbefruchtet abgelegte Eier sind nicht entwicklungsfähig. d) Der geschlechtliche Duft des jungfräulichen Weibchens hört im Augenblick der Eiablage auf. Dieser Duft ist am stärksten nach dem Schlüpfen, verliert aber täglich an Wirksamkeit. e) Weibliche Puppen sind leicht zu erkennen. Deshalb ist es unschwer, sich genügend Lockweibchen zu ver-

schaffen. f) Die Entwicklung der Puppen kann man durch Wärme beschleunigen, dadurch kann man Lockweibchen früher haben, noch bevor Weibchen im Walde schlüpfen. Infolgedessen kann man die im Walde schlüpfenden Männchen schon früher abfangen, bevor noch Weibchen schlüpfen. Letztere bleiben daher ohne Männchen.

Bei späteren Versuchen, die auf diese Anregung hin durchgeführt wurden, war das Sammelergebnis sehr gut. Eben geschlüpfte Weibchen wurden in leeren Zündholzschachteln eingesperrt und letztere mit Organtin lose eingewickelt und in Mannshöhe am Stamm befestigt. Mit 69 Fangschachteln und 85 schlüpfenden Weibchen wurden vom 21. Juli bis 14. Aug. 1931: 9662 Nonnen-Männchen an Leimstreifen gefangen in einem nicht sehr dicht bevölkerten Gebiet. Durch Fledermäuse wurde der Fangbetrieb wesentlich gestört.

Die Anziehungskraft eines Weibchens dauerte durchschnittlich 8 Tage, ausnahmsweise 14 Tage, mindestens aber 3 Tage. Sofort nach der Eiablage hörte der Reiz gänzlich auf. Durch dieses Nonnenfangverfahren von Dyk wurde die Nonne in einem Verbreitungsherd gänzlich ausgerottet.

Besonders gute Ergebnisse wurden mit dem Schwammspinner Lymantria dispar erzielt. Das Männchen des Schwammspinners schwärmt nicht wie das der Nonne während der Nacht, sondern zumeist am Tage um die Mittagszeit. Der Duft wirkt auf mindestens 100 m. Sogar Schachteln, in denen Weibchen aufbewahrt worden waren, sind noch nach 2—3 Tagen wirksam. Auch der Goldafter (Euproctis chrysorrhoea L.) läßt sich auf die angegebene Weise leicht fangen. Anschließend werden weiter ergebnisreiche Versuche aus Böhmen geschildert. Weitere Versuche befassen sich mit der Frage, ob es möglich sein wird, den Weibchenduft zu konservieren. Das aussichtsreiche Verfahren der Nonnenbekämpfung verdient besondere Beachtung.

Gößwald (Berlin-Dahlem).

Sokanowsky, Boris, Zur Bekämpfung der Spinnmilbe Tetranychus Althaeae v. Haerst. in Gehölzen der Moskauer Anlagen. (Anz. f. Schädlingskde. Jahrg. 14. 1938. S. 68—69.)

Die Spinnmilbe Tetranychus verursacht in den Moskauer Anlagen beträchtlichen Schaden. Abgesehen von dem vorzeitigen Laubfall veranlaßt der Schädling ein Kränkeln der Bäume. Die Spinnmilbe verbringt die ganze Vegetationsperiode auf dem Baum und verläßt diesen erst beim Auftreten der Herbstfröste, um im Erdboden zu überwintern. Im Frühjahr kriecht die Spinnmilbe wieder auf den Baum, um sich von dem Saft der Blätter zu ernähren. Zur Feststellung der Zahl der Milben wurden an den Stämmen Fangringe mit Raupenleim der Firma Schering Kahlbaum (extra hell) angebracht und der Leim 2—3 cm stark auf ein Stück Wachspapier aufgetragen und dieses mittels eines Bindfadens ¾—1 m über dem Boden am Stamm befestigt. Auf der Klebfläche von 50 qcm an einem Leimring wurden 275 Milben je Quadratzentimeter, zusammen 13 750 Stück gezählt, an einem anderen Baum über 21 800 Stück. Oberhalb der Fangringe wurden die Milben mit Klebpapier weggefangen, das auf den Stamm aufgedrückt wurde. Auf diese Weise wurden noch einmal auf einem Stamm 48 840 Milben gezählt. Auf den Zweigen befanden sich nur noch vereinzelte Schädlinge, nicht mehr als 7—8 auf 25 qcm. Die Hauptmenge der Spinnmilben kriecht also im Herbst am Stamm herab, um im Boden zu überwintern. Durch das Anbringen von Fangringen können die Schädlinge auf ihrer Wanderung vernichtet werden. Zur Bekämpfung der Spinnmilben über dem Fanggürtel werden die Baumstämme mit einer Emulsion aus Mineralölen bespritzt. Die Abtötung beträgt 85—90%. Im Frühjahr müssen sofort nach der Schneeschmelze wieder Fangringe an die Bäume gelegt werden, diesmal 1½—2 m über dem Boden. Die sich darunter ansammelnden Milben werden wieder auf die gleiche Weise abgespritzt.

Gößwald (Berlin-Dahlem).

Abgeschlossen am 29. Dezember 1938.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band 99 enthaltenen Arbeiten.

Ainsworth, G. C., Oyler, E., and **Read, W. H.,** Observations on the spotting of tomato fruits by Botrytis cinerea Pers. 472

Alejew, B. S. und **Gorkin, I. F.,** Zur Mikrobiologie der Säuerung der Zwiebeln. 155

Allen, L. A., s. **Hassouna, M. M.**

Anand, J. S., s. **Chaudhuri, H.**

Anderson, H. W., s. **Kadow, K. J.**

Antyschewa, W. Ja., s. **Manteufel, A. Ja.**

Aoki, K., Über die Analyse der Bakterienkörper der vier Rezeptoren. 448

—, Weitere Mitteilung (III) über die Wirkung von Desinfektionsmitteln auf die verschiedenen Rezeptoren von Bakterien. 96

Auerswald, H., Welche Mikroorganismen wirken auf Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen antagonistisch? Ein Beitrag zur Frage der Ursache der Hemmungswirkung des Speichels auf Diphtheriebazillen. 465

Aufhammer, G., Wanzenstichige Weizen- und Gerstenkörner. 287

Ayers, Th. T., s. **Hahn, G. G.**

Azevedo, N., Observações sobre uma doença de virus em tomateiro. 286

Baier, C. R., Bakteriologische Erdölstudien. 162

Baines, R. C., Mint anthracnose. 81

Baker, Frank, and **Martin, Rollo,** Studies in the Microbiology of the Caecum of the Horse. (Orig.) 400

Barsow, K. K., Die beschleunigte Zählmethode des Bact. coli in Wasser mit Hilfe von Membranfiltern. 76

Bartos, D. und **Buchgraber, J.,** Vergleichendes Verfahren zur Prüfung von Desinfektionsmitteln. 96

Batschinskaja, A. A. und **Petrosjan, A. P.,** Über die Beziehungen zwischen Azotobacter chroococcum und Aktinomyceten. 69

Baudyš, E., Zdravotný význam bóru pro rostlinu. (Die gesundheitliche Bedeutung des Bors für die Pflanze.) 470

—, und **Mrkos, I.,** Das Verwelken der Kartoffeln (Vadnutí brambor). 471

Bawden, F. C. und **Pirie, N. W.,** Enzyme, Chromosomen, Virus. 152

Bedwell, J. L., Twig blight of Asiatic chestnuts especially that caused by Phomopsis. 79

Békésy, Nikolaus von, Über parasitische Mutterkornkulturversuche. (Orig.) 321

Benatar, R., Sobre uma nova mancha em epicarpo de „Citrus sinensis" Osbeck causada pelo Phoma Puttemansii n. sp. 347

Bennett, C. W., and **Wallace, Hugh E.,** Relation of the Curly Top Virus to the Vector, Eutettix tenellus. 170

Berjezowa, E. F., Kulikowa, W. I. u. a., Die Rolle der chemischen und biologischen Faktoren bei partieller Sterilisation des Bodens. 75

Berry, G. P., s. **Tittsler, R. P.**

Beyma thoe Kingma, F. H. van, Beschreibung einiger neuer Pilzarten aus dem „Centraalbureau voor Schimmelcultures" Baarn (Holland). V. Mitteilung. (Orig.) 381

Beynum, J. van und **Pette, J. W.,** Die Stabilität der Gärungssilage. (Orig.) 353

Bhatia, K. L., s. **Chaudhuri, H.**

Bjälfve, G., s. **Nilsson, R.**

Blaas, K., Über neue Methoden zur Desinfektionsmittelprüfung. 425

Bliss, B. E., Two new species of Omphalia which cause decline-disease in date palms. 472

Blumenberg, W., Zur Frage der Gesundheitsschädigung durch angestoßene Porzellangeschirre. 448

Börner, C. und **Schilder, F. A.,** Die Verbreitung der Reblaus in Deutschland nach dem Stande des Jahres 1937. 171

Bogdanow, W. M., Über zähflüssige Säurewecker. 343

Bojanovsky, Rudolf, Absolute Reinkulturen von Pilzen aus Speziesreinkulturen durch Ionenzuchtwahl (phyletisches Ionenphänomen). (Orig.) 55

—, Über das Eisenbedürfnis eines zellulosezerstörenden Pilzes und seinen Zusammenhang mit dem adsorptionschemischen Verhalten des Ferroions. (Orig.) 48

Bojko, E., Über das Dunkelwerden des Roggenkorns bei der Lagerung. 340

Bond, E. T., Infection experiments with Cladosporium fulvum Cooke and related species. 441

Bonde, R., s. **Stevenson, F. J.**
Bordukowa, M. W., Über die Bestimmung der Widerstandsfähigkeit der Kartoffeln gegen die Phytophthora. 285
Bough, A. S., Honey Fungus as a disease of Rhododendron. 441
Braak, J. P., Een Verticillium aantasting van Brusselsch lof. (Eine Verticillium-Krankheit der Zichorie.) 350
Bräunert, R., s. **Oesterle, P.**
Branas, Jean, Traitements du mildiou de la vigne. 80
Brand, T. von, Rakestraw, N. W., and **Renn, C. E.**, The experimental decomposition and regeneration of nitrogenous organic matter in sea water. 76
Bredenbröker, Untersuchungen über die Möglichkeit einer Gruppenbildung bei den Colibazillen. 464
Breit, E., Studien über die Darmflora des Menschen. 446
Broekhuizen, S., Ziekten en Plagen van de Champignoncultuur. (Krankheiten und Schäden der Edelpilzzucht.) 165
Brown, I. G., Relation of livestock to the control of sclerotinosis of lettuce. 79
Bucherer, H., s. **Schmidt-Lange, W.**
Buchgraber, J., s. **Bartos, D.**
Burger, F. W., Iepensterfte in Nederland. (Ulmensterben in den Niederlanden.) 351
Burström, D., s. **Nilsson, R.**
Buston, H. W., Kasinathan, S., and **Wylie, S. M.**, The Nitrogen Requirements of Nematospora gossypii in Synthetic Media. 168
Butler, M. R., The effect of its nitrogen content on the decomposition of the polysaccharide extract of Chondrus crispus. 78

Campbell, Marie E., A disease of the viola caused by Ramularia deflectens. 284
Castellani, E., A propos de la mise en liberté, par activité microbiologique du phosphore lié au complexe colloidal du sol. 434
—, Le métabolisme de l'urée dans ses rapports avec la dynamique du sol. 434
Cayley, Dorothy M., Experimental spawn and mushroom culture. II. Artificial composts. 433
Chance, H. L., Mitosis-like activity in Bacillus sp. A preliminary report. 150
Chaudhuri, H., Kapur, V. S., Bhatia, K. L., and **Anand, J. S.**, Diseases of the tea bush in the Kangra valley, Punjab I. 165
Chinn, B. D., s. **Koser, St. A.**
Chitwood, B. G., and **Chitwood, M. B.**, An Introduction to Nematology. 64
—, **M. B.**, s. **Chitwood, B. G.**
Christie, J. R., Two distinct strains of the Nematode Aphelenchoides fragariae occurring on Strawberry Plants in the United States. 474
Claborn, H. V., s. **Gersdorff, W. A.**
Clark, Cash L., s. **Stevenson, F. J.**
Clifton, Ch. E., On the possibility of preventing assimilation in respiring cells. 66
Colhoun, J., Fungi causing rots of apple fruits in storage in northern Ireland. 286
Colson, B., The Cytology and Development of Phylloctinia corylea Lev. 167
Console, A. D., and **Rahn, O.**, A study of gelatin digestion by Bacillus subtilis. 334
Corberi, E., Ricerche sopra i cocchi acido-proteolitici del Gorini. 149
Cordon, T. C., s. **Waksman, S. A.**
Crandall, B. S., and **Hartley, C.**, Phytophthora cactorum associated with seedling diseases in forest nurseries. 285
Crecelius, H. G., s. **Hunter, Ch. A.**
Cunningham, A., and **Smith, A. M.**, The characteristics of lactobacilli isolated from samples of A. I. V. silage. 159

Dame, F., s. **Stapp, C.**
Davis, B. H., The Cercospora leaf spot of rose caused by Mycosphaerella rosicola. 440
—, **J. G.**, Alcohol-Glycerol rennet preparations in cheese-making. 74
—, Induced O/R Potentials, rates of growth and the volatile acid production of lactic acid bacteria in milk. 71
Defago, G., Cryptodiaporthe castanea (Tul.) Wehmeyer, parasite du chataignier. 349
De Fontenay, F. J. und **Lund, A.**, Beeinflussen die Heferassen die Schaumhaltigkeit des Bieres? 281
Dettwiler, H. A., s. **Ivanoff, S. S.**
Deuel, R. E., s. **Rahn, O.**
Deysher, E. F., s. **Holm, G. E.**
Dhein, A., Einfluß der Kalisalzdüngung auf die Widerstandsfähigkeit der Kartoffel gegen Schorf. 86
Dicker, H., Fusobakterien als echte Krankheitserreger beim Menschen. 464
Dodge, B. O., The perithecial cavity formation in a Leptosphaeria on Opuntia. 85
Dörwald, Werner, Untersuchungen über Bact. proteus, fluorescens und alcaligenes in der Milchwirtschaft, unter besonderer Berücksichtigung des Vorkommens dieser Bakterien auf dem Tilsiter Käse. (Orig.) 177
Dohlen-Tiedeman, W. v., and Hohl, N. J., Improved laboratory control of pasteurized milk. 342
Dooren de Jong, L. E., den, Das Verhalten von Azotobacter unter abnormen Lebensbedingungen. 333
Drechsler, Ch., Two hyphomycetes parasitic on oospores of root-rotting oomycetes. 85

Dubois, Georges, Monographie des Strigeida (Trematoda). 279
Dunegan, J. C., The rust of stone fruits. 351

Ebeling, R., Über den Einfluß von Licht auf die Farbstoffbildung bei Penicillium funiculosum Thom. 152
Edwards, E. E., Field Investigations upon the Control of the Mustard Beetle, Phaedon cochleariae F., on Watercress. 175
—, On the eelworm disease of Primulas caused by Anguillulina dipsaci Kühn. 91
Ehrke, G., Kartoffelbeizung. 86
Eidmann, H., Neue Untersuchungen über die Nonne. 89
Emon, J., Court-noué et Phylloxera. 169
Erven, H., Aus der Praxis der Kartoffelbeizung zur Bekämpfung der Pockenkrankheit. 87
Eryrard, A., s. **Guittonneau, G.**
Escudié, P., Comparaison de trois champignons qui causent le „Mildiou". 85
Ext, W., Detal gegen Ohrwürmer. 288

Farský, O., Nové a velmi vážné onemocnění modřínových mlazin. (Eine neue und sehr ernste Erkrankung von Lärchenjungtrieben.) 443
Fehér, D., Einige Bemerkungen zu meinen Arbeiten über die regionale Verbreitung der Bodenalgen. 159
— und **Frank, M.,** Untersuchung über den Einfluß der Temperatur und des Wassergehaltes auf die Tätigkeit der Mikroorganismen des Bodens. II. Mitt.: Die Bestätigung der experimentell abgeleiteten Gesetzmäßigkeiten durch Untersuchung der Wald- und Ackerböden und ihre Übertragung auf den Wärme- und Wasserhaushalt der höheren Pflanzen. 434
Feldmann, R. I., Lischanskaja, B. B., Rubanowitsch, A. A. u. a., Die Methode zur Beurteilung der Konsumqualität von Sauerkraut. 468
Fellows, H., Interrelation of take-all lesions on the crowns, culms, and roots of wheat plants. 283
Fink, H., Zur biologischen Eiweiß-Synthese. 428
—, **Haehn, H.** und **Hoerburger, W.,** Über die Versuche zur Fettgewinnung mittels Mikroorganismen mit besonderer Berücksichtigung der Arbeiten des Instituts für Gärungsgewerbe. 155
Fisher, Ronald C., Studies of the Biology of the Death-Watch Beetle, Xestobium rufovillosum De G. II. The Habits of the Adult with special Reference to the Factors affecting Oviposition. 93
Flanzy, M., et **Sèze, René de,** Action comparée des phosphates et des composés ammoniacaux sur la fermentation des raisins foules. 157
Foltz, V. D., and **Martin, W. H.,** Comparison of tryptone-glucose-skimmilk and standard nutrient agars as media for determining the bacterial count in ice cream. 344
Frank, L. C., Moss, F. J., Fuchs, A. W., Haskell, W. H., Miller, M. M., Thomas, R. C., and **Havens, M. K.,** Studies of the bactericidal treatment of milk cans in hot-air cabinets. 72
—, **M.,** s. **Fehér, D.**
—, **Melanie,** s. **Hwang, Yellow.**
Friedmann, C. A., and **Henry, B. S.,** Bound water content of vegetative and spore forms of bacteria. 334
Friedrich, G., Eine einfache Kontrolle des Fusikladiumsporenfluges (Venturia inaequalis Cooke Aderhold.). 82
—, s. **Loewel, E. L.**
Fromherz, H. und **Heiß, J.,** Zur Kenntnis der oligodynamischen Wirkung des Silbers. 96
Fuchs, F. J., s. **Frank, L. C.**
—, **W. H.,** s. **Roemer, Th.**
Funk, E., Über den Ersatz von Agar-Agar durch Pektin bei bakteriologischen Arbeiten. 94

Gante, Th., Zur Resistenzzüchtung gegen Pseudopeziza ribis Klebahn. I. Beitrag zur Kenntnis der Infektionsbedingungen und der Kultur des Pilzes. 82
Gautier, T. N., s. **Wilmot, R. J.**
Gawrisch, W., Einige Daten zur Biologie der Milben. 173
Geichermann, D. G., s. **Rubentschik, L. I.**
Gerber, B. A., Zur Frage des Milchzuckerabbauvermögens von Bacterium coli. 463
Gersdorf, Erasmus, Über die Ähnlichkeit der Larven des Kartoffelkäfers mit denen des Lilienhähnchens. 175
Gersdorff, W. A., and **Claborn, H. V.,** The Toxicity of Phenothiazine and some of its Oxidation Products , in Experiments with Carassius auratus. 164
Giddings, N. J., Studies of selected Strains of Curly Top Virus. 473
Gigante, R., Esperienze sulla trasmissibilità della „necrosi del cuore" dei tuberi di patata. (Untersuchungen über die Übertragbarkeit der „Herznekrose" der Kartoffelknollen.) 352
—, Il mosaico del sedano. (Die Mosaikkrankheit des Selleries.) 88
—, Il mosaico della violaciocca. (Die Mosaikkrankheit der Lackviole.) 88
—, Il mosaico della zucca. (Die Mosaikkrankheit des Kürbisses.) 88
—, Una nuova malattia del pomodoro. (Eine neue Krankheit der Tomate.) 88
Göpp, K., Kornkäferbekämpfung? 288

Göpp, K., Versuche mit dem „Duracet-Kornkäfer-Bekämpfungsmittel". 288
— und **Sauer, W.**, Versuche zur Prüfung von Montanin für die Kornkäferbekämpfung. 445
Goffart, H., Zur Biologie und Bekämpfung von Tausendfüßlern. 174
—, Zur Lebensgeschichte von Heterodera schachtii maior (Nematodes). (Orig.) 394
Goidanich, G., Le alterazioni cromatiche parassitarie del legname in Italia. (Die chromatischen parasitären Veränderungen des Holzes in Italien.) I. Nozioni generali sui funghi cromogeni del legno. (Allgemeine Kenntnisse über die chromogenen Pilze des Holzes.) II. Una intensa colorazione del legno di pino causata da Sphaeropsis Ellisii Sacc., var. cromogena G. Goid. var. n. (Eine starke Färbung des Kiefernholzes, verursacht von Sphaeropsis Ellisii Sacc. var. cromogena G. Goid. var. n.) III. Colorazione rosa del legno di pioppo, causato da „Fusarium javanicum" Kds. (Rosa-Färbung des Pappelholzes, verursacht von „Fusarium javanicum" Kds.). IV. I parassiti del legno di conifere. (Die Parasiten des Nadelholzes.) 84
—, Notizie su una malattia della vite poco conosciuta. (Über eine wenig bekannte Krankheit der Rebe.) 472
Gooch, F. S., s. **Ryker, T. C.**
Gordon, R. D., and **ZoBell, Claude E.**, Note on the Successive Dilution Method for Estimating Bacterial Populations. (Orig.) 318
Gorkin, I. F., s. **Alejew, B. S.**
Greene, H. C., Colony organization of certain bacteria with reference to sporulation. 150
Groves, A. B., The relation of concentration of fungicides and bud development to control of peach leaf curl. 283
Guggenheim, K., s. **Kligler, I. J.**
Guittonneau, G., Mocquot, G., et **Eryrard, A.**, Recherches sur la pasteurisation des laits de consommation. — Premier mémoire: Choix d'un milieu de culture pour la numération des germes microbiens. 71
Gundel, M. und **Stundl, K.**, Feststellungen an Wasserwerken mit stark verunreinigtem Rohwasser. 435
Gunsalus, I. C., and **Stark, C. N.**, Formate rizinoleate and brilliant green bile broths to detect coliform organisms in pasteurized milk. 342

Haas, W., s. **Kliewe, H.**
Habs, H., Zur Frage der Enterokokkentypen. 428
Haehn, H., s. **Fink, H.**
Hähne, H., Die Drehherzkrankheit der Kohlgewächse. 174
Häni, J., Versuche über die unter dem Einfluß der Bakterienentwicklung in der Milch auftretenden Veränderungen, ein Beitrag zur Abklärung des Begriffes der „erstickten" Milch. 280
Hahn, G. G., and **Ayers, Th. T.**, Failure of Dasyscypha willkommii and related large-spore species to parasitize Douglas fir. 83
Hammer, B. W., s. **Michaelian, M. B.**
Hampp, H., Erprobung von Hopfen-Schädlingsbekämpfungsmitteln. 285
— und **Jehl, J.**, Blattlausbekämpfungsversuche auf dem Hopfenversuchsgut in Hüll 1937. 172
—, —, Erdflohbekämpfungsversuche bei Hopfen auf dem Hopfenversuchsgut in Hüll 1937. 171, 172
—, —, Zwei neue Methoden zur Prüfung der pilzötenden Wirkung der Hopfenperonospora-Bekämpfungsmittel. 435
Hanne, R., Über Heißluftsterilisation. 94
Hansen, P. Arne, s. **Margolena, Lubow A.**
Hanson, F. E., Spicer, D. W., and **Price, W. V.**, Observations on the splitting of brick cheese. 470
Hartelius, V., Der Einfluß der Bios-Wuchsstoffe und der Stoffwechselprodukte der Hefe auf Stickstoffaufnahme und -ausscheidung der Hefe. 429
—, Untersuchungen über die Stickstoffassimilation der Hefe. XI. Der Einfluß der Bios-Wuchsstoffe und der Stoffwechselprodukte der Hefe auf Stickstoffaufnahme und -ausscheidung der Hefe. 69
—, s. **Nielsen, N.**
— und **Nielsen, N.**, Ausschüttelung des Faktors Z und der Bios-Wuchsstoffe durch Hefe. 336
Harter, L. L., A root rot of peas caused by Fusarium coeruleum. 350
—, Mosaic of Lima Beans (Phaseolus lunatus macrocarpus). 472
Hartley, C., s. **Crandall, B. S.**
Haschè, E. und **Loch, P.**, Quantitatives über die Einwirkung von Kurzwellen auf Bakterien. 94
Hase, A., Zerstörungen von Papierwaren durch Silberfischchen (Lepismatiden) und deren Bekämpfung. 161
Haskell, W. H., s. **Frank, L. C.**
Hassouna, M. M., and **Allen, L. A.**, The influence of conditions of culture and of different nutrient substrats on the characters of lactic acid streptococci. 149
Havens, M. K., s. **Frank, L. C.**
Hayashi, K., Über die agglutinatorische Einteilung der Colibazillen. 464

Hegarty, C. P., s. **Rahn, O.**
Heierle, E., Untersuchungen einer unter dem Namen „Rost" in der Schweiz stark verbreiteten Tabakkrankheit. 87
Heiß, J., s. **Fromherz, H.**
Helm, R., Der gelbe Galt und Versuche zur Heilung mit Entozon-Infusionen. 73
—, Versuche mit dem Melkgleitmittel Weitnerit-Gel zur Verhütung der Weiterverbreitung des gelben Galtes. 430
Henglein, F. A., Schwartz, W. und **Salm, Luzie**, Über Eiweißerzeugung aus Kohlehydraten und anorganischen Stickstoffsalzen durch Gärung in Silos. (Orig.) 35
— und **Salm, L.**, Über die Erhöhung des Eiweißgehaltes von Grünfutter. 282
Hennyey, E. v., Untersuchungen über die Gebrauchsfähigkeit von Bakterienfiltern 94
Henrici, A. T., Studies of freshwater bacteria. IV. Seasonal fluctuations of lake bacteria in relation to plancton production. 160
Henry, B. S., s. **Friedmann, C. A.**
Hess, E., A shell disease in Lobsters (Homarus americanus) caused by chitinovorus bacteria. 446
Hey, A., Wieder sichere Seradella-Erträge. 166
Hirt, R. R., Relation of stomata to infection of Pinus strobus by Cronartium ribicola. 169
Hodson, W. E. H., On Synonymy and Biology of the Strawberry Aphis, Capitophorus fragariae Theo (1912). 92
—, The Stem and Bulb Eelworm, Anguillulina dipsaci (Kühn), in Strawberry in Britain. 475
Hoecker, W. H., s. **Michaelian, M. B.**
Hoerburger, W., s. **Fink, H.**
Hoffmann, S., Bakteriologische und hygienische Erfahrungen bei Desinfektionsversuchen vermittels des Elektrokatadyn-Verfahrens. 426
Hohl, N. J., s. **Dohlen-Tiedeman, W. v.**
Holm, G. E., Wright, P. A., Withe, W., and **Deysher, E. F.**, The keeping quality of butters. I. The rates of deterioration of butters made from creams of different acidities and stored at various temperatures. 343
Honecker, L., Die Bestimmung der physiologischen Rassen des Gerstenmehltaues (Erysiphe graminis hordei Marchal). 349
Hopp, H., Sporophore formation by Fomes applanatus in culture. 466
Hosenfeld, M., Die Oligodynamie in Theorie und Praxis. 95
Hotchkiss, M., s. **Waksman, S. A.**
Hunter, Ch. A., and **Crocellius, H. G.**, Hydrogen sulfide studies. I. Detection of hydrogen sulfide in cultures. 425
Hutchings, I. J., s. **Waksman, S. A.**
Hwang, Yellow und **Frank, Melanie**, Untersuchungen über den Einfluß der Bodenreaktion auf die Ammonifikation und Nitrifikation in humusreichen Böden. (Orig.) 97
Hynes, H. J., Studies on Rhizoctonia root-rot of wheat and oats. 438

Iggena, M. L., Beobachtungen über die Wirkung des Lichtes auf das Wachstum von Blaualgen und Grünalgen. 340
Imsenecki, A., and **Solnitzeva, L.**, On aerobic cellulose decomposing bacteria. 67
Ingram, J. W., and **Summers, E. M.**, Transmission of Sugarcane Mosaic by the Green Bug (Toxoptera graminum Roud.). 473
Isenbeck, K., s. **Roemer, Th.**
Itzerott, D., Über Keimung und Wachstum von Ustilago zeae (Beckm.) Ung., mit besonderer Berücksichtigung der Infektion. 436
Ivanoff, S. S., Riker, A. J., and **Dettwiler, H. A.**, Studies on cultural characteristics, physiology and pathogenicity of strain types of Phytomonas Stewarti. 286

Jacobsen, D. H., Bacterial content and keeping quality of butter after removal from storage. 73
Jahnel, F., Über das Überleben von Syphilisspirochäten bei tiefster Temperatur (— 271,5°, 1,7°, vom absoluten Nullpunkt entfernt). 465
Jakes, E., Beitrag zum mikrobiologischen Problem der Leguminosen und Gramineen. 346
James, H. C., Sex Ratios and the Status of the Male in Pseudococcinae (Hem. Coccidea). 92
Jancke, O., Über die Blutlausanfälligkeit von Apfelsorten, wilden Malus-Arten und -Bastarden, sowie die Züchtung blutlausfester Edeläpfel und Unterlagen. 442
Jarmolenko, I. M., Über die Methoden der Anwendung der Köder zur Bekämpfung der Wintersaateuleraupen auf Wintergetreide. 176
Jehl, J., s. **Hampp, H.**
Jenkins, A. E., and **McWhorter, F. P.**, Additional records of rose anthracnose in the United States. 284
Jermolajew, M. F. und **Kriwul'tzowa, A. E.**, Erfahrungen bei der Bekämpfung der Speicherschädlinge. 176
Jettmar, H. M. v., Über die sporozide Wirkung heißer Sodalösung. 461
Joachim, Die natürliche Sauerteigführung. 340
Junk, W., Oppenheimer, C. und **Weisbach, W.**, Tabulae Biologicae. 279

Kadow, K. J., and **Anderson, H. W.**, The value of new copper sprays as fungicides for the control of apple blotch, cherry leaf spot, and apple scab. 168
Kalnins, A., Biochemical and microfloral changes involved in the flax retting process. 162
Kamenskij, K., Über die Ursachen der Gelbfleckigkeit des Weizenkorns. 340
Kapur, V. S., s. **Chaudhuri, H.**
Kasinathan, S., s. **Buston, H. W.**
Kathe, Lebensmittelinfektionen durch besondere Erreger. 429
Kellin, D., Chemische Struktur und Eigenschaften einiger Fermente (oder Diastasen). 153
Kiermeier, F., Butterlagerung bei tiefen Temperaturen. 280
Kimball, G. C., The growth of yeast in a magnetic field. 151
Klebahn, H., Untersuchungen über die Krankheiten des Meerrettichs. II. 349
Kleber, W., Über Herstellung und Eigenschaften der belgischen obergärigen Biere. 282
Klemm, M., Umgeknickte und liegende Getreidehalme (Getreidehalmwespe — Cephus pygmaeus L.). 90
Kliewe, H., „Zinol", ein neues Grobdesinfektionsmittel. 462
— und **Haas, W.**, Kunstdüngemittel und Sekundärinfektionen. 448
Kligler, I. J., and **Guggenheim, K.**, The influence of vitamin C on the growth of anaerobes in the presence of air, with special reference to the relative significance of E H and O_2 in the growth of anaerobes. 67
Klinkowski, M., s. **Richter, H.**
Klut, H., Untersuchung des Wassers an Ort und Stelle. 461
Knauth, B. und **Neuhoff, W.**, Die Milchlinge (Lactarii) aus „Die Pilze Mitteleuropas". Bd. 2. 278
Koning, Henriette C., The bacterial Canker of Poplars. (Bakterien-Krebs bei Pappeln.) 351
Kononenko, E. W., Zur Frage über den Erreger der Welkekrankheit bei der Baumwolle. 283
Korab, I. I., Milben auf den Zuckerrübensamen und ihre Bekämpfungsmethoden. 173
Koser, St. A., Chinn, B. D., and **Saunders, F.**, Gelatin as a source of growth promoting substances for bacteria. 334
Krasil'nikow, N. A. und **Tausson, T. A.**, Die Veränderlichkeit der Proactinomyceten und Mykobakterien. 333
Kresling, E., Die Oxydation des Sorbits durch Mikroorganismen. 151
Kriwul'tzowa, A. E., s. **Jermolajew, M. F.**
Krüger, E., s. **Wollenweber, H. W.**
Kulikowa, W. I., s. **Berjezowa, E. F.**
Kulkarni, N. T., s. **Uppal, B. N.**
Kunike, G., Zur Lebensweise der Teppichkäfer. 445
Kuntze, A. H., Literatur über tropische Nutzpflanzen und deren Krankheiten und Schädlinge. 64
Kuryołwicz, W., Die Stellung des Sklerombakteriums in der Gruppe der Kapselbakterien. 465
Kuznetzow, S. I., Die quantitative Bestimmung der Mikroflora im Zusammenhang mit „mikrozonalen" Daten des Seeschlammes. 435

Lafon, J., Etude préparation et emploi d'un sel de fer efficace contre la Chlorose. 471
Laine, T., s. **Virtanen, A. I.**
Laurent, P., Le Pourridié de la vigne. 81
Lehmann, H., Ein weiterer Beitrag zum Problem der physiologischen Spezialisierung von Phytophthora infestans de Bary, dem Erreger der Kartoffelkrautfäule. 347
Leitzke, B., Infektionsversuche mit Haferflugbrandsporen-Gemischen. 437
Lembke, A., Die Frage der Butterhaltbarkeit im Lichte der Proteasenforschung bei Mikroorganismen. 157
Lentze, F. A., Zur Bakteriologie und Vakzinetherapie der Aktinomykose. I. Mitt. 466
Lepik, E., Eine durch Sclerotinia sclerotiorum verursachte Kartoffelinnenfäule. 347
Lewis, I. M., Cellinclusions and the life cycle of Rhizobia. 332
Liese, Beurteilung neuerer Fäulnisschutzmittel. 161
Linder, D. H., New Venezuelan Fungi imperfecti. 82
Lineweaver, H., Physical characteristics of cells of Azotobacter, Rhizobium, and Saccharomyces. 159
Lipman, C. B., Tolerance of liquid air temperatures by spore-free and very young cultures of fungi and bacteria growing on agar media. 67
Lippelt, H., Zur Pathogenität der Blastomyzeten. 466
Lischanskaja, B. B., s. **Feldmann, R. I.**
Loch, P., s. **Haschè, E.**
Loewel, E. L. und **Friedrich, G.**, Fusikladiumbeobachtungen an eingetüteten Apfelzweigen während der Vegetationsperiode. 440
Lucchese, E., Contributi alla conoscenza dei Lepidotteri del melo-Cydia pomonella L. (Beitrag zur Kenntnis der Apfelbaum-Lepidopteren — C. pomonella L.) 443
Lund, A., s. **De Fontenay, F. J.**
Luyk, A. van, Antagonism between various Microorganisms and different species of

the Genus Pythium, parasitizing upon Grasses and Lucerne. (Antagonismus zwischen verschiedenen Mikroorganismen und einigen Arten der Gattung Pythium, parasitär auf Gräsern und Luzerne.) 439

Mader, E. O., and **Mader, M. T.,** Effect of bordeaux mixture on three varieties of potatoes with respect to yields, composition of tubers, and control of scab. 85

—, **M. T.,** s. **Mader, E. O.**

Maldwyn, W. Davies, and **Whitehead, T.,** Studies on Aphides infesting the Potato Crop. VI. Aphis Infestation of isolated Plants. 171

Manteufel, A. Ja. und **Antyschewa, W. Ja.,** Die Wirkung der Temperatur auf die Acetonbutylgärung. 153

Margolena, Lubow A., and **Hansen, P. Arne,** Propionibacterium rubrum from dairy cheese. (Orig.) 107

Marsais, P., et **Ségal, L.,** Contribution à l'étude de l'action anticryptogamique du cuivre. 164

Martin, Rollo, s. **Baker, Frank.**

—, **W. H.,** s. **Foltz, V. D.**

Maschmann, E., Die Proteinase des B. prodigiosus, B. pyocyaneus und B. fluorescens liquefaciens. 467

Massee, A. M., An Eriophyid Mite injurious to Tomato. 92

Matuszewski, T., Odbarwianie blekitu metylenowego przez Streptococcus thermophilus i Bacterium coli w mleku wyjalowionym. (Die Entfärbung von Methylenblau durch Streptococcus thermophilus und Bact. coli in sterilisierter Milch.) 342

McBeth, C. W., White clover as a host of the sugar-beet nematode. 90

McCallan, S. E. A., and **Wilcoxon, Fr.,** Laboratory comparisons of copper fungicides. 163

—, s. **Wilcoxon, Fr.**

McLachlan, I. D., A rust of the pimento tree in Jamaica, B. W. I. 169

McNew, G. L., Isolation of variants from cultures of Phytomonas stewarti. 87

McWhorter, F. P., s. **Jenkins, A. E.**

Meyer, R., Weitere Beiträge zur Kenntnis der Cellulosezersetzung unter niedriger Sauerstoffspannung. 151

Michaelian, M. B., Hoecker, W. H., and **Hammer, B. W.,** Effect of pH on the production of acetylmethyl-carbinol plus diacetyl in milk by the citric acid fermenting streptococci. 70

Miller, M. M., s. **Frank, L. C.**

Minenkow, A. R., s. **Obrazcowa, A. A.**

Mocquot, G., s. **Guittonneau, G.**

Möller, E. F., Vitamin B 6 (Adermin) als Wuchsstoff für Milchsäurebakterien. 470

Mohr, W. und **Ritterhoff,** Dauerbutter aus Süßrahm oder Sauerrahm? 281

Moreau, E., Traitements contre les vers de la grappe effectués en 1937 par la Station de recherches viticoles de la Maison Moet-et-Chandon. 92

Morton, H. E., and **Pulaski, E. J.,** The preservation of bacterial cultures. I. 425

Moß, F. J., s. **Frank, L. C.**

Mothes, K., Neuere Untersuchungen auf dem Gebiete des Eiweißstoffwechsels. 68

Mrkos, I., s. **Baudyš, E.**

Müller-Claus, G., Der Wärmegang in Wurstwaren beim Räuchern und Brühen und deren Einfluß auf die Bakterienflora im allgemeinen und einige pathogene Keime insbesondere. 429

Müller, Heinr., s. **Stapp, C.**

Mündel, O., Was soll man von der siedenden Sodalösung als Verfahren für Instrumentensterilisation verlangen? 462

Münder, H., Der Einfluß des Sauerstoffs auf die alkoholische Gärung. 337

Mulder, E. G., Over de beteekenis van koper voor de groei van planten en micro-organism. (Über die Bedeutung des Kupfers für das Wachstum der Pflanzen und Mikroorganismen.) 78

Nagel, C. M., The longevity of Cerospora beticola in soil. 76

Neall, D. C., Crincle leaf, a new disease of Cotton in Louisiana. 79

Nesterowa, K., Das Beizen des Leinsaatgutes mit Präparat „P D". 81

Netz, H., Magnesiumlegierungen in Brauereien. 432

Neuhoff, W., Die Gallertpilze (Tremellineae). 278

—, s. **Knauth, B.**

Newhall, A. G., The spread of onion mildew by windborne conidia of Peronospora destructor. 168

Nielsen, N., s. **Hartelius, V.**

— und **Hartelius, V.,** Die Stickstoff-Ausscheidung der Hefe bei tiefer Temperatur. 281

—, —, Untersuchungen über die Wuchsstoffwirkung der Aminosäuren gegenüber Hefe. 336

—, —, Untersuchungen über die Wuchsstoffwirkung von β-Alanin, β-Alanyl-Glycin, Asparaginsäure, Glycyl-Asparaginsäure und verwandte Stoffe auf Hefe. 338

—, —, Versuche über den Einfluß des β-Alanins auf das Wachstum von Aspergillus niger. 338

Niethammer, A., Die mikroskopischen Bodenpilze, ihr Leben, ihre Verbreitung sowie ihre ökonomische und pathogene Bedeutung. 277

—, Wachstumsversuche mit mikroskopischen Bodenpilzen. 159

Nikolaew, A. M., Über die Bereitung des „Gorgonzola"-Käses. 74
Nilsson, R., Bjälfve, G. und **Burström, D.**, Vitamin B_1 als Zuwachsfaktor für Bact. radicicola. 332
Niven, C. F., s. **Sherman, J. M.**
Nothdorff, G., s. **Ritter, H.**
Nyberg, O., Mutationserscheinungen an einem Aerobacterstamm. 427

Obrazcowa, A. A. und **Minenkow, A. R.**, Spurenelemente als wirksamkeitsbedingender Faktor des Nitragins. 75
Örösi-Pál, Zoltán, Ein parasitischer Mikroorganismus aus der Bienenkönigin. (Orig.) 141
Ørskov, J., Zur Morphologie der von G. Seiffert kultivierten Mikroorganismen. 427
Oesterle, P., Über die Ursache der hohen Dampfresistenz der Sporenerde. Der Einfluß der Schichthöhe. 461
— und **Bräunert, R.**, Die Unterschiede im Keimgehalt der Luft in verschiedener Höhe über dem Arbeitsplatz unter Verwendung des löslichen Trockenfilters. 467
Oppenheimer, C., s. **Junk, W.**
Ovinge, A., Kwade Harten-Proeven in Zeeland in 1937. (Herzfleckigkeits-Versuche in Zeeland in 1937.) 470
Oyler, E., s. **Ainsworth, G. C.**

Padwick, G. W., Complex fungal rotting of pea seeds. 283
Pal, B. P., and **Tandon, R. K.**, Types of tobacco leaf-curl in northern India. 170
Parsky, O., Nonnenkontroll- und Vorbeugungsmethode nach Professor Forst.-Ing. Dyk. 475
Pels Leusden, Fr., Bakteriologische Untersuchungsergebnisse anläßlich der Pinneberger Scharlachepidemie. 468
Perquin, L. H. C., Bijdrage tot de kennis der oxydatieve dissimilatie van Aspergillus niger van Tieghem. 337
Pesch, K. L., Vorschlag zur Wertung der Ergebnisse von Desinfektionsmittelprüfungen. 426
Petersen, G. A., Perithecial material of Erysiphe and Microsphaera on Trifolium pratense. 471
Petrosjan, A. P., s. **Batschinskaja, A. A.**
Pette, J. W., s. **Beynum, J. van.**
Picbauer, R., Addenda ad floram Cechoslovakiae mycologicam. Pars VIII. 441
Piekarski, G., Zytologische Untersuchungen an Bakterien im ultravioletten Licht. 462
Pietz, Joachim, Beitrag zur Physiologie des Wurzelknöllchenbakteriums. (Orig.) 1
Pijanowski, E., s. **Supinska, J.**
— und **Supinska, J.**, Przyczynek do skladu chemicznego i mikrobiologicznego oraz do techniki wyrobu bryndzy owczej. (Beiträge über die chemische und bakteriologische Zusammensetzung und über die Herstellung von „Bryndza".) 344
Pirie, N. W., s. **Bawden, F. C.**
Pisu, I., Remarques concernant des études récentes sur la nature du bactériophage. (A propos de la production artificielle d'un agent lytique spécifique.) 154
Plakidas, A. G., The mode of action of Bordeaux on Mycosphaerella fragariae. 284
Pönninger, R., Der künstlich belüftete Tropfkörper. 276
Polónyi, P., Die endogene und die Kontaktdiphtherie. (Die pathogenetische Bedeutung der Kokken und Stäbchenform des Diphtherieerregers.) 464
Pont, E. G., and **Sutton, W. S.**, The pH of N. S. W. butter and its relationship to bacterial and yeast counts. 469
Powell, M. E., Flavor and bacterial changes occurring during storage of sweet cream which has been flash pasteurized at various temperatures. 72
Prica, M., Über die bakterizide Wirkung des Naturhonigs. 431
Price, W. V., s. **Hanson, F. E.**
Pulaski, E. J., s. **Morton, H. E.**
Pustet, A., Die Bekämpfung der Bisamratte in Deutschland 1936/37. 93

Rahn, O., and **Hegarty, C. P.**, Accessory factors in lactic fermentation. 154
—, —, and **Deuel, R. E.**, Factors influencing the rate of fermentation of Streptococcus lactis. 153
—, s. **Console, A. D.**
Raju, M. S., Studies on the Bacterial-Plant Groups. IV. Variations in the Fermentation Characters of Different Strains of Nodule Bacteria of the Cowpea, Cicer and Dhaincha Groups. (Orig.) 133
—, Studies on the Bacterial-Plant Groups of Cowpea and Cicer. V. Symbiotic Fixation of Nitrogen. (Orig.) 289
—, Studies on the Bacterial-Plant Groups. VI. Variation in the Effectiveness of Different Strains of Nodule Bacteria of the Cowpea Group. (II) Influence of Light on the Effectiveness. (Orig.) 449
Rakestraw, N. W., s. **Brand, T. von.**
Read, W. H., s. **Ainsworth, G. C.**
Reichel, L., Über den Mechanismus der Synthese von Fett und Fettsäuren durch den Hefepilz Endomyces vernalis. 69
Reihling, K. I., Wachstumsversuche mit Dauerlupine. B. Bodenkundlicher Teil. 345
Renn, C. E., s. **Brand, T. von.**
Resühr, Br., Untersuchungen über die Symbiose von Tieren mit Pilzen und Bakterien. VI. Mitteilung: Zur Morpho-

logie und Protoplasmatik der bakterioiden Symbionten einiger Homopteren (Philaenus spumarius L., Cicadella viridis L. und Pseudococcus Citri Risso.) 447
Rice, E. B., The coliform bacteria of butter. 73
Richter, H. und **Klinkowski, M.**, Wirtelpilz-Welkekrankheit an Luzerne und Esparsette. 350
Rieth, Günter, Ein Versuch zur Vergrämung der Maikäferweibchen. 175
Riggert, E., Der augenblickliche Stand der Schädlingsbekämpfung im Ölfruchtbau. 171
Riker, A. J., s. **Ivanoff, S. S.**
Rittenberg, S. C., s. **Zobell, Cl. E.**
Ritter, H. und **Nothdorff, G.**, Serologische Milchuntersuchungen im Rahmen des Tuberkulosebekämpfungsverfahrens aus den Jahren 1933—1936. 430
—, **P.**, Beiträge zur Frage der nachträglichen Blähung von Alptalkäsen. 431
Ritterhoff s. **Mohr, W.**
Rivnay, E., Factors, affecting the Fluctuations in the Population of Toxoptera aurantii Boy. in Palestine. 93
Rjumin, N. I., „Nitragin" aus der Wurzelmasse der Lupine und des Klees. 433
Rodenkirchen, J., Die Propionsäurebakterien und ihr Vorkommen im Tilsiter Käse. 157
Röder, K. und **Schultz, H.**, Petersilie, eine neue Wirtspflanze von Erysiphe umbelliferarum De Bary. (Orig.) 60
Roemer, Th., Fuchs, W. H. und **Isenbeck, K.**, Die Züchtung resistenter Rassen der Kulturpflanzen. 278
Rombouts, J., Uma molestia de „Eucalyptus" e de „Populus" na Bahia, causada por „Corticium salmonicolor" B. et Bred. 348
Rubanowitsch, A. A., s. **Feldmann, R. I.**
Rubentschik, L. I. und **Geichermann, D. G.**, Zur Mikrobiologie der Schlammseen: Die Untersuchungsergebnisse des Schlammsees Golopristanskoje. 160
Rumjantzew, P., Schildwanzen und ihre Bekämpfungsmaßnahmen. 172
Ryker, T. C., and **Gooch, F. S.**, Rhizoctonia sheath spot of rice. 168

Saastamoinen, S., s. **Virtanen, A. I.**
Sadasivan, V. und **Sreenivasan, A.**, Die Anwendung der Kjeldahl-Methode für Untersuchungen über die Bindung von Stickstoff durch Samen von Leguminosen während der Keimung. 433
Saint-Charles, R. de, Etudes et résultats de la lutte chimique contre les énnemis de la vigne en Beaujolais. 287
Salm, L., s. **Henglein, F. A.**
Sauer, W., s. **Göpp, K.**
Saunders, F., s. **Koser, St. A.**
Sch., A., Der Matzka-Prozeß in seiner Anwendung zur Sterilisierung von Fruchtsäften. 432
Schiehuber, A. M., Studies in the effect of bunt, Tilletia tritici and Tilletia levis, on wheat. 437
Schilder, F. A., s. **Börner, C.**
Schmakowa, N. P., Über die Anwendung des Stroms mit ultrakurzen Wellen zur Milchpasteurisierung. 430
Schmidt-Lange, W. und **Bucherer, H.**, Die Chitinolyse pathogener Aktinomyzeten. 466
Schmitt, H., Über Fragen der praktischen Schädlingsbekämpfung im Weinbau. 91
Schnegg, H. und **Weigand, K.**, Beiträge zur Kenntnis der Thermobakterien und Essigbakterien. 158
Schopfer, W. H., Aneurine et hétérotrophie chez les microorganisms. 463
Schouwenburg, K. L. van, On respiration and light emission in luminous bacteria. 66
Schütz, F., Demonstration eines neuen Nährbodens. 425
— und **Theorell, H.**, Über das gelbe Ferment bei verschiedenen Bakterien. 467
Schultz, E. S., s. **Stevenson, F. J.**
—, **H.**, s. **Röder, K.**
Schulz, Max, Beeinflussung des Milchsäurebakterien-Wachstums durch Kefirpulver und „Kefermon". (Orig.) 375
Schulze, Röntgen - Interferenz - Untersuchung gesunder und pilzbefallener einheimischer Holzarten. 160
Schwartz, W., s. **Henglein, F. A.**
Ségal, L., s. **Marsais, P.**
Segal, R. B., Die Wirkung der Fuselöle und ihrer Komponenten auf Hefe. 336
Seiffert, G., Filtrable Mikroorganismen in der freien Natur. 426
Seilke, K., Neuere Untersuchungen über Fragen der Biologie und Physiologie des Kartoffelkäfers. 175
—, Der Pfirsichtriebbohrer (Cydia molesta Busck.). 445
Sèze, René de, s. **Flanzy, M.**
Sherman, J. M., and **Niven, C. F.**, The Hemolytic Streptococci of milk. 279
Shewan, J. M., The strict anaerobes in the slime and intestines of the haddock (Gadus aeglefinus). 341
Shih, Lei, Über den Heterothallismus des Staubbrandes, Sphacelotheca cruenta (Kühn) Potter, der Mohrenhirse, Andropogon sorghum Brot. 339
Silbereisen, K., Die elktrische Ladung der Hefe und ihre Bedeutung für die Agglutination (Bruchbildung). 344
—, Zur Schnellbestimmung der Endvergärung im Bier. 432
Skinner, C. E., The „tyrosinase reaction" of the Actinomycetes. 154
Skorowarow, M., Die Wirkung der Tem-

peratur und des Schwefeldioxyds auf den Erbsenkäfer (Bruchus pisi L.). 176
Small, T., The relation between potato blight and tomato blight. 435
Smart, R. F., The reaktions of the swarmcells of Myxomycetes to nutrient materials. 335
Smith, A. M., s. **Cunningham, A.**
—, **C. O.**, Inoculation of some economic plants with Phytophthora cactorum and P. citrophthora. 79
—, **W. W.**, and **Zobell, C. E.**, Direct microscopic evidence of an autochthonous bacterial flora in Great Salt Lake. 77
Sokanowsky, Boris, Zur Bekämpfung der Spinnmilbe Tetranychus Althaeae v. Haerst. in Gehölzen der Moskauer Anlagen. 476
Solnitzeva, L., s. **Imsenecki, A.**
Spicer, D. W., s. **Hanson, F. E.**
Sreenivasan, A., s. **Sadasivan, V.**
Staberow, O., Untersuchungen über kulturelles Verhalten typischer und atypischer Colibazillen. 464
Stapp, C., Der Pflanzenkrebs und sein Erreger Pseudomonas tumefaciens. IV. Mitteilung: Asparagus sprengeri Rgl. und Phaseolus vulgaris L. als Wirtspflanzen. (Orig.) 116
— und **Müller, Heinr.**, unter Mitwirkung von **Dame, F.**, Der Pflanzenkrebs und sein Erreger Pseudomonas tumefaciens. VII. Mitteilung: Untersuchungen über die Möglichkeit einer wirksamen Bekämpfung an Kernobstgehölzen. (Orig.) 210
Stark, C. N., s. **Gunsalus, I. C.**
Steiner, G., Nematodes infesting Red Spiderlilies. 91
—, Opuscula miscellanea nematologica. VII. 446
Stevenson, F. J., Schultz, E. S., Clark, Cash. L., and **Bonde, R.**, Breeding for resistance to late blight in the potato. 85
Stollowa, E., Untersuchungen an einem bisher noch nicht bekannten Anaerobier. 465
—, **Eugenia R.**, Vergleichende bakteriologische Untersuchungen an einigen deutschen Stämmen des Bac. larvae, des Erregers der bösartigen Faulbrut der Honigbiene. (Orig.) 124
Stoll, K., Der Apfelmehltau [Podosphaera leucotricha (Ell. u. Ev.) Salm.]. 167
Stundl, K., s. **Gundel, M.**
Stutz, L., Über die Herstellung keimfreier Heringskonserven bei 120° (1 atü) und das Roheinbüchsen von Heringen. 468
Summers, E. M., s. **Ingram, J. W.**
Supinska, J., and **Pijanowski, E.**, Chemical and bacteriological analysis of „Huslanka". 156
—, s. **Pijanowski, E.**
Sutton, W. S., s. **Pont, E. G.**
Tanaka, K., Zur Physiologie der Essigbakterien. III. Vergleichende Untersuchungen über die oxydativen Leistungen von Essigbakterien. IV. Über den Einfluß der verschiedenen Giftstoffe auf die oxydativen Umsetzungen der Essigbakterien. V. Über die Oxydierbarkeit von verschiedenen Alkoholen und Aldehyden. 65
Tandon, R. K., s. **Pal, B. P.**
Tarantola, Cl., Variations de l'acide citrique sous l'influence des ferments du vin. 75
Tousson, T. A., s. **Krasil'nikow, N. A.**
—, **W. O.**, Die Umwandlung der Energie durch Mikroorganismen. VIII. Über die Menge der lebenden und abgestorbenen Zellen bei Schimmelpilzen. 337
Tchélistcheff, A., La microflora des vins et la fermentation mannitique. 432
Tharps, W. H., A sand-nutrient infection technique for the study of Fusarium wilt of cotton. 283
Theorell, H., s. **Schütz, F.**
Thomas, H. Rex., s. **Tompkins, C. M.**
—, **I.**, On the Bionomics and Structure of some Dipterous Larvae infesting Cereals and Grasses. III. Geomyza (Balioptera) tripunctata Fall. 173
—, **R. C.**, s. **Frank, L. C.**
Thornberry, H. H., Pectase activity of certain microorganisms. 153
Tittsler, R. P., and **Berry, G. P.**, The electrophoretic migration velocity of Escherichia coli after cultivation on media of varying composition. I. Observation following changes in organic constituents. II. Observations following changes in inorganic constituents. 150
Tompkins, C. M., and **Thomas, H. Rex.**, A Mosaic disease of Chinese Cabbage. 474
True, R. P., Gall developement on Pinus sylvestris attacked by the Woodgate Peridermium, and morphology of the parasite. 83
Tschegoljew, W. N., Die Wirksamkeit der „Locksaaten" des Hanfes bei der Bekämpfung des Hanfflohes. 174
Tschistossjerdowa, G. W., Das Studium der Eigenschaften der Bakteriophagen von manchen phytopathogenen Bakterien. 468
Uppal, B. N., and **Kulkarni, N. T.**, Studies in Fusarium wilt of sann-hemp. I. The physiology and biology of Fusarium vasinfectum. 166
Ursprung, A., Die Messung der osmotischen Zustandsgrößen pflanzlicher Zellen und Gewebe. 63

Varga, O., Bacterium coli okozta sajtmérgezés. (Elözetes Közlemény.) (Eine durch Bacterium coli verursachte Käsevergiftung.) 156
—, Kisérletek élelmiszereknek ultrarövid elektromos hullámokkal valo konzerválására. (Versuche über die Konservierung von Lebensmitteln mittels ultrakurzer elektrischer Wellen.) 155
Vartiovaara, U., s. **Waksman, S. A.**
Veauvy, P., L'Eudémis. 444
Verona, O., A propos des causes microbiennes de domage au papier et aux livres. 339
Virtanen, A. I., and **Laine, T.**, Excretion of aspartic acid by freeliving nitrogen-fixers. 333
—, —, Excretion of l-aspartic acid from the root nodules of leguminous plants. 346
—, **Saastamoinen, S.**, and **Laine, T.**, On the factors influencing the excretion from the root noduls. 345
Vloten, H. van, Een ziekte van den Douglasspar (waarschijnlijk), veroorzaakt door Phaeocryptopus Gäumanni (Rohde) Pet. (Adelopus Gäumanni Rohde). [Eine Krankheit der Douglasien (wahrscheinlich) verursacht durch Phaeocryptopus Gäumanni (Rohde) Pet.] 165
Volk, A., Biologie und Bekämpfung der Typhulafäule an Wintergerste. 80
Voorhees, R. K., Eye-spot disease of Napier grass. 351
Vučković, Velimir, Eine Vereinfachung der Lindnerschen Tröpfchenmethode. (Orig.) 32

Waksman, S. A., and **Cordon, T. C.**, A method for studying decomposition of isolated lignin, and the influence of lignin on cellulose decomposition. 161
—, and **Hotchkiss, M.**, On the oxidation of organic matter in marine sediments by bacteria. 77
—, and **Hutchings, I. J.**, Lactic acid production by species of Rhizopus. 70
—, and **Vartiovaara, U.**, The adsorption of bacteria by marine bottom. 77
Wallace, Hugh E., s. **Bennett, C. W.**
Watkins, G. M., Histology of Phymatotrichum root rot of field-grown cotton. 284
Wean, R. E., The parasitism of Polyporus schweinitzii on seedling Pinus strobus. 83
Weigand, K., s. **Schnegg, H.**
Weisbach, W., s. **Junk, W.**
Went, J. C., Compilation of the investigation on the susceptibility of different elms to Ceratostomella ulmi Buisman in the Netherlands. 438
—, Verslag van de Onderzoekingen over de Iepenziekte, verricht op het Phyt. Lab. „Willie Commelin Scholten" te Baarn gedurende 1937, 351
Whelden, R. M., Changes observed in cultures of Aspergillus niger bombarded as spores with low voltage cathode rays. 338
White, W., s. **Holm, G. E.**
Whitehead, T., s. **Maldwyn, W. Davies.**
Wilcoxon, Fr., and **McCallan, S. E. A.**, The weathering of Bordeaux mixture. 163
—, s. **McCallan, S. E. A.**
Wilhelm, A. F., Eine neue Bakterienkrankheit an Begonien. 87
Wilmot, R. J., and **Gautier, T. N.**, A portable Instrument for the Analysis of Hydrocyanic Acid Gas-Air Mixtures. 165
Wilson, P. W., Effect of species of host plant on nitrogen fixation in Melilotus. 346
Winge, O., Über die Herstellung neuer Hefetypen durch Kreuzung. 335
Winning, E. v., Der Stand der Ausbreitung des Kartoffelkäfers in Frankreich, Belgien, Luxemburg und Deutschland im Herbst 1936. 89
Winston, J. R., Algal fruit spot of orange. 286
Wöste, Die Getreide-Blumenfliege. 90
Woldau, E., Beitrag zum Studium der Wanzenschädigungen an Halmfrüchten. 444
Wollenweber, H. W. und **Krüger, E.**, Die Septoria- oder „Pasmo"-Krankheit des Leins in Deutschland. 81
Wright, P. A., s. **Holm, G. E.**
Wylie, S. M., s. **Buston, H. W.**

Yale, M. W., Standard agar counts as compared with counts on improved agars at 32° C. 469
Yeager, J. Franklin, Mechanographic Method of recording Insect Carding Activity, with Reference to Effect of Nicotine on isolated Heart Preparations of Periplaneta americana. 445
York, H. H., Inoculation with forest tree rusts. 169

Zabel, E., Bekämpfung des Kornkäfers. 288
Zattler, F., Blattwespenlarven als Hopfenschädlinge. 443
Zeetti, R., Ricerche batteriologische sulla putrefazione della carne. (Bakteriologische Untersuchungen über die Fleischverwesung.) 341
—, Ricerche sull' azione a distanza dei metalli sui microorganismi. (Untersuchungen über die Fernwirkung der Metalle auf die Mikroorganismen.) 462
Zillig, H., Der Eichenprozessionsspinner (Thaumetopoea processionea L.) als Gelegenheitsschädling an Weinreben. 475

Zimmermann, S., Il metodo delle lastrine di rame per la diagnosi della degenerazione delle patate. (Die Kupferplättchenmethode für die Diagnose des Kartoffelabbaues.) 442
—, **W.,** Fehlerquellen bei der Einstellung und elektrometrischen Messung der Wasserstoffionen - Konzentration der Nährböden. 95
Zobell, Cl. E., and Rittenberg, S. C., The occurrence and characteristics of chitinoclastic bacteria in the sea. 76
ZoBell, Claude E., s. **Gordon, R. D.**
—, s. **Smith, W. W.**

II. Namen- und Sachverzeichnis.

(Stichworte, die auf Originalarbeiten hinweisen, sind durch ein * gekennzeichnet.)

*Abavit, Bodendesinfektion zur Wurzelkropfbekämpfung. 252
Abbau, Kartoffel-, Brauchbarkeit der Bechholdschen Kupferblechprobe. 442
Absidia, Einfluß der Temperatur flüssiger Luft. 68
*— cylindrospora, Vorkommen in humosem Boden, Einfluß der Reaktion. 101
— glauca, Beziehungen zu Vitamin B_1. 463
— ramosa, Beziehungen zu Vitamin B_1. 463
Abtimys albus, Einfluß auf Azotobacter chroococcum. 69
Abwasser, biologische Reinigung, Eignung künstlich belüfteter Tropfkörper. 276
Acaulium nigrum, Wachstumsversuche, Einfluß von Metallen, Antagonismus. 159
Acetobacter-Arten, Oxydationsvermögen. 65
— - —, Oxydation von Sorbit. 151
Achorutes viaticus, Vorkommen in Tropfkörpern bei der Abwasserreinigung. 276
*Ackerbohne, Stickstoffbindung durch Knöllchenbakterien, physiologische Untersuchungen. 1, 68
*Acrostalagmus albus, Vorkommen in humosem Boden, Einfluß der Reaktion. 102
Actinomyces-Arten, Einfluß auf Azotobacter chroococcum. 69
— - —, Tyrosin-Stoffwechsel. 154
Adelopus Gäumanni, Schädigung an Douglasien. 165
Adermin, Bedeutung als Wuchsstoff für Milchsäurebakterien und Hefen. 470
Aelia acuminata, Schäden an Getreide in der Südslowakei, Bekämpfungsmöglichkeiten. 444
— —, Schädigung an Weizen und Gerste. 287
— furcula, Schädigung an Weizen, Bekämpfung. 172
Aerobacter, Mutationserscheinungen. 427
Agar, Ersatz durch Pektin in der Bakteriologie. 94
—, — — Polyvinylalkohol in Bakteriennährböden. 425
Aktinomykose, Bakteriologie und Vakzintherapie. 466
Aktinomyzeten, Beziehungen zu Corynebakterien. 466
—, Chitinzersetzung, Spezialnährboden. 466
—, Dampfresistenz der Sporen. 461
—, Einfluß auf Azotobacter chroococcum. 69
—, Keimzahlverminderung in bakteriologischen Arbeitsräumen. 467
Alanin, β-, Ausscheidung aus Leguminosenknöllchen. 346
—, —, Wuchsstoffwirkung auf Hefe. 336, 338
Algen, Bekämpfung durch Kupfer und Silber (oligodynamische Wirkung). 96
—, Blau- und Grün-, Lichteinfluß auf Wachstum. 340
—, Boden-, regionale Verbreitung. 159
—, Rot-, Zersetzung, Einfluß des N-Gehaltes. 78
Alopecurus aequalis, Befall durch Cerebella moravica n. sp. 442
Alternaria solani, Testobjekt für Prüfung von Kupfer-Fungiziden. 163
Althaea rosea, Wirtspflanze für Tabak-Kräuselvirus, Infektionsversuche. 170
*Ameisensäure, Bodendesinfektion zur Wurzelkropfbekämpfung. 252
Aminosäuren, Ausscheidung aus Leguminosenknöllchen. 346
—, Wuchsstoffwirkung auf Hefe. 336, 338
*Ammonifikation im Boden, Einfluß der Reaktion. 97
Andropogon sorghum s. Mohrenhirse.
Anemone ranunculoides, Befall durch Marsonia moravica n. sp. 442
Anguillulina dipsaci, Befall von Erdbeeren in England. 475
— —, — — Primeln, Krankheitsbild, Sortenanfälligkeit. 91
Antagonismus bei Bakterien (Sporenbildner gegen Diphtheriebakterien). 465
— — Bodenpilzen, Wachstumsversuche. 160
— — Pilzen, Hemmung von Pythium-Arten durch andere Pilze. 439
Anthrenus-Arten, Unterscheidungsmerkmale, Biologie. 445

Apfel, Befall durch Cydia molesta, Verbreitung, Biologie und Bekämpfung des Schädlings. 445
—, — — — pomonella, Beziehungen zwischen der Biologie des Schädlings und der Wirtspflanze. 443
—, Blutlaus - Anfälligkeit, Infektionsversuche an Sorten und Wildlingen. 442
—, Fruchtfäule, Isolierung und Bestimmung zahlreicher Erreger in Irland. 286
—, Mehltau, zusammenfassende Darstellung. 167
—, Schorf, Bedeutung des Bors. 471
—, —, Bekämpfungsversuche mit verschiedenen Kupfermitteln. 168
—, —, Beobachtungen an eingetüteten Apfelzweigen. 440
—, —, Sporenflug-Kontrolle durch neue Sporenfalle. 82
*—, Wurzelkropf, Bekämpfungsmöglichkeiten, umfassende Untersuchungen. 210
Aphanomyces, Befall durch Trinacrium subtile und Dactylella spermatophaga. 85
Aphelenchoides fragariae, Befall von Lycoris radiata in U. S. A. 91
— —, Vorkommen physiologischer Rassen. 474
Aphis Gossypii, Überträger der Kürbis-Mosaikkrankheit in Italien. 88
Aprikose, Befall durch Cydia molesta, Verbreitung, Biologie und Bekämpfung des Schädlings. 445
Arginin, Wuchsstoffwirkung auf Hefe. 336
Armillaria, Einfluß der Temperatur flüssiger Luft. 68
— mellea, Befall von Rhododendron, Rassen des Pilzes, unterschiedliche Anfälligkeit der Wirtspflanzen. 441
— —, Wurzelschimmel der Reben, Bekämpfungsmöglichkeiten. 81
Arsen, Erdflohbekämpfung an Hopfen. 172
Ascochyta Zavřelii Ignatii, Neubeschreibung, Befall von Onopordon acanthium. 442
Ascorbinsäure, Einfluß auf das Wachstum von Anaerobiern bei Sauerstoffgegenwart. 67
Askomyzeten, Beitrag zur Flora der Tschecho-Slowakei. 441
Asparaginsäure, Ausscheidung aus Leguminosenknöllchen. 346
*Asparagus sprengeri, Befall durch Pseudomonas tumefaciens. 116
Aspergillus, Einfluß der Temperatur flüssiger Luft. 68
— flavus, Menge der lebenden und abgestorbenen Zellen, Bestimmungs-Methode. 337
Aspergillus niger, dissimilatorischer Stoffwechsel. 337
— —, Einfluß von β-Alanin. 338
— —, — — Kathodenstrahlen, Mutantenbildung. 339
— —, Kultur auf Pektin - Nährböden (Agar-Ersatz). 94
— —, Kupferbedarf, Kupferbestimmung in Bodenproben. 78
— —, Ursache des Dunkelwerdens von Roggenkörnern bei der Lagerung. 341
Assimilation, Verhinderung in atmenden Bakterienzellen. 66
Azetylmethylkarbinol, Bildung durch Zitronensäurevergärende Streptokokken, Einfluß des p_H-Wertes. 70
Azotobacter, Veränderlichkeit unter abnormen Lebensbedingungen. 333
— beijerinckii, physikalische Beschaffenheit der Zellen. 159
— chroococcum, Asparaginsäurebildung. 333
— —, Beeinflussung durch Aktinomyzeten. 69
— —, Einfluß der Temperatur flüssiger Luft. 67
— —, physikalische Beschaffenheit der Zellen. 159
— vinelandii, physikalische Beschaffenheit der Zellen. 159

*Bacillus, Vorkommen im Pferdeblinddarm. 406
— amylobacter, Rolle bei der Flachsröste. 162
— Delbrücki, Reoxydation des gelben Ferments. 467
— diphthericus, Fernwirkung von Metallen. 463
— fruticosus, Neubeschreibung, Isolierung von verwesendem Fleisch. 341
*— larvae, bakteriologisch-diagnostische Untersuchungen. 124
— mesentericus, Sporenbildung, mitosisähnliche Vorgänge. 150
— — fuscus, Ursache des Dunkelwerdens von Roggenkörnern bei der Lagerung. 341
— mycoides, Wasserbindungsvermögen der Sporen und Hitzeresistenz. 334
— niger, Ursache des Dunkelwerdens von Roggenkörnern bei der Lagerung. 341
— subtilis, Fernwirkung von Metallen. 462
— —, Gelatineverflüssigungsvermögen, Nährbodeneinfluß. 334
— —, Wasserverbindungsvermögen der Sporen und Hitzeresistenz. 334
*Bacterium, Vorkommen im Pferdeblinddarm. 406
— aceti, Oxydationsvermögen. 65
*— acidophilus, Einfluß von Kefirpulver. 378

Bacterium aerogenes, Keimgehalt der Butter, Einfluß der Rahmbehandlung und des Salzens. 73
*— alcaligenes, Vorkommen auf Tilsiter Käse, umfassende Untersuchungen. 177
— bifidum, Vorkommen im Menschendarm, Nachweis, Isolierung. 446
— cloacae, Keimgehalt der Butter, Einfluß der Rahmbehandlung und des Salzens. 73
— coli, agglutinatorische Einteilung. 464
— —, Assimilationsverhinderung in atmenden Zellen. 66
— —, elektrische Ladung. 345
— —, elektrisch gerichtete Wanderungsgeschwindigkeit, Nährbodeneinfluß. 150
— —, Keimgehalt der Butter, Einfluß der Rahmbehandlung und des Salzens. 73
— —, Keimzahlbestimmung im Wasser, beschleunigte, mit Hilfe von Membranfilter. 76
— —, Methylenblauentfärbung in sterilisierter Milch. 342
— —, Milchzuckerabbauvermögen. 463
— —, Nachweis in pasteurisierter Milch, vergleichende Nährbodenprüfung. 342
— —, quantitativer Einfluß von Kurzwellen. 94
— —, Typeneinteilung. 464
— —, typische und atypische Formen, kulturelles Verhalten. 464
— —, Ursache von Käsevergiftung. 156
— —, Vorkommen in Wurstwaren, Einfluß des Räucherns und Brühens. 429
— — commune, Bildung von Lactoflavin. 467
— — haemolyticum, Vorkommen in Quarg, Ursache enteritischer Massenerkrankungen. 429
— conglobatum, Neubeschreibung, Isolierung von verwesendem Fleisch. 341
— fluorescens, Rolle bei der Entstehung erstickter Milch. 280
*— —, Vorkommen auf Tilsiter Käse, umfassende Untersuchungen. 177
— — liquefaciens, Proteinase-Untersuchungen. 467
— industrium, Vorkommen in Bier, Vergleich mit Thermobakterien. 159
— linens, Flora im Brinsenkäse. 344
— megatherium, Wasserbindungsvermögen der Sporen und Hitzeresistenz. 334
— oxytocum, Keimgehalt der Butter, Einfluß der Rahmbehandlung und des Salzens. 73
— paratyphi, Vorkommen in Wurstwaren, Einfluß des Räucherns und Brühens. 429
— prodigiosum, Fernwirkung von Metallen. 462
— —, Proteinase-Untersuchungen. 467
*— proteus, Vorkommen auf Tilsiter Käse umfassende Untersuchungen. 177
Bacterium pyocyaneum, Proteinase-Untersuchungen. 467
— radicicola, Förderung durch Spurenelemente. 75
*— —, physiologische Untersuchungen. 1, 68
— —, Wachstumsförderung durch Vitamin B_1. 332
— typhi, Vorkommen in Wurstwaren, Einfluß des Räucherns und Brühens. 429
— xanthochlorum, Isolierung eines unspezifischen Bakteriophagen. 468
Bakterien, anaerobe, Darmflora von Nordsee-Schellfischen. 341
—, —, Kultur bei Sauerstoffgegenwart, Einfluß von Ascorbinsäure. 67
—, —, neue Art in menschlicher Mundhöhle. 465
—, Assimilationsverhinderung in atmenden Zellen. 66
—, autochthone Flora des Großen Salzsees. 77
—, bakterizide Wirkung von Bienenhonig. 432
—, chitinzersetzende, Nachweis im Meereswasser und Schlick, Reinkultur. 76
—, —, Rolle bei epidemischer Schalenkrankheit des Hummers. 446
—, Coli-, agglutinatorische Einteilung. 464
—, —, typische und atypische, kulturelles Verhalten. 464
—, —, Typeneinteilung. 464
—, Dampfresistenz der Erdsporen, Ursache. 461
—, Darmflora des Menschen. 446
—, Diphtherie-, Hemmungswirkung des Speichels, Antagonismus von Sporenbildnern. 465
—, —, pathogenetische Bedeutung der Kokken und Stäbchen. 464
—, Einfluß der Temperatur flüssiger Luft. 67
—, — von Desinfektionsmitteln auf Rezeptoren. 96
—, — von Erdöl. 163
—, Erhaltung von Reinkulturen durch Paraffin-Überschichtung. 425
—, Essig-, Oxydationsvermögen. 65
—, —, Vorkommen in Bier, vergleichende Untersuchungen. 158
—, Fernwirkung von Metallen. 462
—, fettzersetzende, Rolle bei der Entstehung erstickter Milch. 280
—, Flora bei der Fleischverwesung, neue Arten. 341
—, — des Meerwassers, Adsorption durch marine Sedimente. 77
*—, — des Pferdeblinddarmes. 406
—, — in Binnenseeschlamm. 160
—, — in Binnenseewasser, Beziehungen zum Plankton. 160
—, — — Brinsenkäse. 344

Bakterien, Flora in Wurstwaren, Einfluß des Räucherns und Brühens. 429
—, Förderung durch Ausscheidungen quellender Leguminosensamen. 346
—, Fuso-, Nachweis als menschliche Krankheitserreger. 464
—, Hemmung durch Ausscheidungen quellender Gramineensamen. 346
—, Hitzeresistenz der Sporen, Beziehungen zum gebundenen Wasser. 334
—, Kapsel-, Stellung der Sklerombakterien. 465
—, Keimgehalt der Butter und p_H-Wert. 469
—, — von beschädigtem Porzellangeschirr. 448
—, Keimzahlbestimmung in Luft, Verminderung in bakteriologischen Arbeitsräumen. 467
—, — — Rahmeis, vergleichende Nährbodenuntersuchung. 344
—, Knöllchen-, Ausscheidung von Asparaginsäure und β-Alanin. 346
*—, —, Einfluß der Bakterienstämme und der Umwelt auf Knöllchenbildung und Stickstoffbindung. 289
—, —, Förder. durch Spurenelemente. 75
—, —, N-Abgabe an Nichtleguminosen, Mischkulturversuche. 345, 346
*—, —, physiologische Untersuchungen. 1, 68, 133
*—, —, Stickstoffbindung, Lichteinfluß. 449
—, —, Unwirksamkeit der Samenimpfung bei Dauerlupinen. 345
—, —, Wachstumsförderung durch Vitamin B_1. 332
—, —, Wechselbeziehungen zwischen Wirtspflanze und Bakterienstamm. 346
—, —, Zelleinschlüsse und Lebenskreislauf. 332
—, künstliches lytisches Prinzip, Bacterioclasie. 155
—, Leucht-, Lichtproduktion und Atmung. 66
—, Milchsäure-, Bedeutung von Vitamin B_6 als Wuchsstoff. 470
*—, —, Einfluß von Kefirpulver und Kefermon. 375
—, Mutationserscheinungen an einem Aerobacterstamm. 427
—, Myxo-, zellulosezersetzende, Reinkultur, Biologie, Morphologie. 67
—, Pectase-Tätigkeit. 153
—, pflanzenpathogene, Isolierung unspezifischer Bakteriophagen. 468
—, physikalische Beschaffenheit der Zellen. 159
—, Propionsäure-, Vorkommen im Menschendarm. 446
—, —, — in Tilsiter Käse. 157
—, Proteinase-Untersuchungen. 467
—, quantitativer Einfluß von Kurzwellen. 94
*Bakterien, Reinkultur, vereinfachte Lindnersche Tröpfchenmethode. 32
—, Rezeptoren-Analyse. 448
—, Schwefel-, Beteiligung an der Tropfkörperverschlammung bei der Abwasserreinigung. 276
—, Schwefelwasserstoff-Nachweis in Kulturen durch Wismus-Indikator. 425
—, Sklerom-, Stellung in der Gruppe der Kapselbakterien. 465
—, sporenbildende, antagonistische Wirkung auf Diphtheriebakterien. 465
—, sporozide Wirkung heißer Sodalösung. 461, 462
—, Symbionten in Insekten, Morphologie, Protoplasmatik, Kulturversuche. 447
—, Syphilisspirochäten, Überleben tiefster Temperaturen. 465
—, Thermo-, Vorkommen in Bier, vergleichende Untersuchungen. 158
—, Vorkommen des gelben Ferments. 467
—, Wachstumsförderung durch gewisse Gelatinesorten. 334
—, zellulosezersetzende, anaerobe, Verhalten bei niedriger Sauerstoffspannung. 151
—, —, Reinkultur, Biologie, Morphologie. 67
—, zytologische Untersuchungen im ultravioletten Licht. 462
Bakterioklasie, Unterschied zur Bakteriophagie. 155
Bakteriologie, Gebrauchsfähigkeit von Bakterienfiltern. 94
Bakteriophagen, unspezifische, Isolierung aus Bact. xanthochlorum. 468
—, Unterschiede zur Bakterioklasie. 155
Basidiomyzeten, Beitrag zur Flora der Tschecho-Slowakei. 441
Baumwolle, „Crincle leaf"-Krankheit in Louisiana, nichtparasitäre Ursachen. 79
—, Fusarium-Welke, künstliche Infektionsmethode. 283
—, Verticillium-Welke, Zerstörung des Erregers durch antagonistische Mikroorganismen. 283
—, Wurzelfäule durch Phymatotrichum omnivorum, histologische Untersuchungen. 284
Beggiatoa alba, Beteiligung an der Tropfkörperverschlammung bei der Abwasserreinigung. 276
Begonia, Bakterienkrankheit, Beschreibung. 87
Beizung, Kartoffel-, Anwendungsmöglichkeiten und Erfolgsaussichten. 86
Betacoccus, Flora im Brinsenkäse. 344
Bienen, Brutkrankheiten, biologische Tafeln. 279
*—, Faulbrut, bakteriologisch-diagnostische Untersuchung des Erregers. 124

*Bienen, parasitischer Mikroorganismus in der Königin, Beschreibung. 141
Bier, obergäriges, belgisches, Herstellung und Eigenschaften. 282
—, Schaumhaltigkeit, Einfluß der Hefe-rassen. 281
—, Schnellbestimmung der Endvergärung. 432
—, Vorkommen von Thermobakterien und Essigbakterien. 158
Bierwürze, Ausschüttelung des Faktors Z und der Bios-Wuchsstoffe durch Hefe. 336
Bios, Ausschüttelung aus Bierwürze durch Hefe. 336
—, Einfluß auf Stickstoffassimilation der Hefe. 69
—, — — Stickstoffaufnahme und -ausscheidung der Hefe. 429
Birne, Befall durch Cydia molesta, Verbreitung, Biologie und Bekämpfung des Schädlings. 445
—, Mehltau, zusammenfassende Darstellung. 167
*—, Wurzelkropf, Bekämpfungsmöglichkeiten, umfassende Untersuchungen. 210
Bisamratte, Bekämpfung in Deutschland 1936/37. 93
Blastomyzeten, Pathogenität, Infektionsversuche. 466
Blattläuse, Bekämpfungsversuche an Hopfen. 172
—, Ursache von Trieberkrankungen an Lärche. 443
Blaualgen, Lichteinfluß auf Wachstum. 340
Blausäure, Bestimmungsapparat, Beschreibung. 165
Blei, Fernwirkung auf Mikroorganismen. 462
Bleiarsenat, Traubenwickler-Bekämpfung in Frankreich. 92
*Blepharoconus, Vorkommen im Pferdeblinddarm. 411
*Blepharocorys, Vorkommen im Pferdeblinddarm. 410
*Blinddarm, Pferde-, mikrobiologische Untersuchungen. 400
Blumenfliege, Getreide-, Schäden in NW-Deutschland, Bekämpfung durch Teeren des Saatgutes. 90
Blutlaus, Anfälligkeit von Apfelsorten und Wildlingen, Infektionsversuche. 442
Boden, Algenflora, regionale Verbreitung. 159
—, Dampfsterilisation, Resistenz der Bakteriensporen, Ursache. 461
—, — zur Behebung der Heidemoorkrankheit. 79
*—, Desinfektion, chemische, zur Wurzelkropfbekämpfung, umfassende Untersuchungen. 242
Boden, Desinfektion durch Chlorpikrin, chemische und biologische Faktoren. 75
—, — — Quecksilbersalze, Bekämpfung von Schorf und Rhizoctonia an Kartoffeln. 87
—, Kupferbestimmung, biologische, mittels Aspergillus niger. 78
—, Mikroflora, Abhängigkeit von Temperatur und Wassergehalt. 434
—, —, Einfluß auf Kalzium- und Phosphor-Kreislauf bei Harnstoffdüngung. 434
*—, Pilzflora, Abhängigkeit von der Reaktion. 101
—, —, Biologie, Verbreitung, Bedeutung. 277
*—, Reaktion, Einfluß auf Ammonifikation und Nitrifikation. 97
*Bohne, Acker-, Stickstoffbindung durch Knöllchenbakterien, physiologische Untersuchungen. 1, 68
*—, Befall durch Pseudomonas tumefaciens. 116
—, Lima-, Mosaikkrankheit, Beziehungen zum Gurkenmosaik, Sortenanfälligkeit. 472
Bor, Einfluß auf Leguminosen in Verbindung mit Nitragin. 75
—, gesundheitliche Bedeutung für die Pflanze, Bordüngung. 470
Botryodiplodia theobromae, Befall des Teestrauches in Indien, Beschreibung, Infektionsversuche. 165
Botrytis cinerea, Fruchtflecke an Tomaten. 472
— —, Pathogenität an Erbse. 284
*— —, Vorkommen in humosem Boden, Einfluß der Reaktion. 102
— paeoniae, Testobjekt für Prüfung von Kupfer-Fungiziden. 163
Brand, Haferflug-, Infektionsversuche mit Sporengemischen. 437
—, Mais-, keimungsphysiologische Versuche, Infektionsmodus, Wachstum in der Pflanze. 436
—, Weizenstein-, Einfluß auf resistente Weizensorten. 437
*Brassicol, Bodendesinfektion zur Wurzelkropfbekämpfung. 252
Brauerei, Unbrauchbarkeit von Magnesiumlegierungen. 432
Bretanomyces bruxellensis, Rolle bei der Herstellung obergäriger belgischer Biere. 282
Brevicoryne brassicae, Übertragung der Mosaikkrankheit des chinesischen Kohls. 474
Brinsenkäse, Herstellung, chemische und bakteriologische Zusammensetzung. 344
Brot, natürliche Sauerteigführung. 340
Bruchbildung der Hefe, Bedeutung der elektrischen Ladung. 344
Bruchus pisi, Bekämpfung durch Hitze und Schwefeldioxyd. 176

Brunnenkresse, Schädigung durch Senfkäfer, Bekämpfung. 175
Brutkrankheiten der Biene, biologische Tafeln. 279
Butter, australische, Coligehalt, Einfluß der Rahmbehandlung und des Salzens. 73
—, Haltbarkeit im Lichte der Proteasenforschung bei Mikroorganismen. 157
—, Keimgehalt, Einfluß der Kühlhauslagerung und des Salzens. 73
—, Keimgehaltsverminderung durch Ultrakurzwellen. 155
—, Kühllagerung, Einfluß der Herstellungsart (aus Sauer- oder Süßrahm). 281
—, —, — — Qualität, bakteriologische Untersuchungen. 280
—, pH-Wert, Keimgehalt und Qualität. 469
—, Qualität, Einfluß der Rahmsäuerung und der Lagertemperatur. 343
*—, Vorkommen von Margarinomyces fasciculatus n. sp. 384
*—, — — — Hoffmannii n. sp. 386
*—, — — — luteoviridis n. sp. 381
*—, — — Tilachlidium butyri n. sp. 388

*Cajanus indicus, Knöllchenbildung, Einfluß der Bakterienstämme und der Umwelt. 289
*— —, Stickstoffbindung, Lichteinfluß. 449
Capitophorus fragariae, Biologie und Systematik, Schädigung an Erdbeeren. 92
Carassius auratus, Giftwirkung von Phenothiazin. 164
Carboxylase, Co-, biologische Tafeln. 279
Carpocoris pudicus, Schädigung an Weizen und Gerste. 287
Caseococcus, Isolierung aus Granakäse, vergleichende Untersuchungen. 149
Castanea s. Edelkastanie.
Cavariella Pastinacae, Überträger der Mosaikkrankheit des Sellerie in Italien. 88
Cellvibrio, Zellulosezersetzung, Reinkultur, Biologie Morphologie. 67
Cephaleuros mycoidea, Befall des Teestrauches in Indien, Beschreibung, Infektionsversuche. 165
— —, Erreger von Fruchtflecken an Citrus sinensis. 286
Cephalobus persegnis, Befall von Lycoris radiata in U.S.A. 91
Cephalosporium Ciferrii, Neubeschreibung, Zerstörung von Papier. 339
— Costantini, Schädigung in Champignonkulturen, Bekämpfung. 165
— lamellaecola, Schädigung in Champignonkulturen, Bekämpfung. 165
Cephus pygmaeus, Biologie und Bekämpfung. 90
Ceratostomella ulmi, Anfälligkeit der Ulmenarten, Infektionsversuche. 438
Ceratostomella ulmi, Ausbreitung und Infektionsversuche an Sämlingen in Holland. 351
Cercospora-Arten, Blattfleckenerreger an Rose. 440
Cercospora beticola, Lebensdauer im Boden. 76
— Puderii, Neubeschreibung, Blattflekkenerreger an Rose. 440
— rosicola, Blattfleckenerreger an Rose, Hauptfruchtform: Mycosphaerella rosicola n. sp. 441
Cercosporella Hurae, Neubeschreibung, Blattfleckenerreger an Hura crepitans. 82
Cerebella moravica, Neubeschreibung, Befall von Alopecurus aequalis. 442
*Ceresan, Bodendesinfektion zur Wurzelkropfbekämpfung. 253
Ceutorrhynchus assimilis, Biologie und Bekämpfung. 171
— pleurostigma, Biologie und Bekämpfung. 171
Champignon, Krankheiten und Schädlinge, Zusammenstellung. 165
—, Kulturversuche auf künstlichen Komposten. 433
Chermes abietis, Auftreten an Lärche. 443
Cheyletus eruditus, Auftreten an Getreide im Speicher. 173
— —, Befall von Leinsamen im Speicher, Bekämpfung. 176
— —, — — Zuckerrübensamen, Bekämpfung. 173
Chitin, Zersetzung durch Bakterien des Meereswassers, Eignung als C- und N-Quelle. 76
Chlamydomonas pseudococcum, Lichteinfluß auf Wachstum. 340
Chloramin, Prüfung als Desinfektionsmittel, Methodik. 425
Chlorpikrin, Bodendesinfektion, chemische und biologische Faktoren. 75
Chondrus crispus, Zersetzung, Einfluß des N-Gehaltes. 78
Cicadella viridis, Bakteriensymbiose, Morphologie und Protoplasmatik der Symbionten, Kulturversuche. 447
*Cicer arietinum, Knöllchenbildung, Einfluß der Bakterienstämme und der Umwelt. 289
Cichorium intybus s. Zichorie.
Citrus, Befall durch Toxoptera aurantii in Palästina, Epidemiologie des Schädlings. 93
—, Fruchtflecken durch Cephaleuros mycoidea. 286
—, — — Phoma Puttemansii n. sp. 347
Cladosporium cucumerinum, Infektionsversuche, Entwicklungsvorgang in der Wirtspflanze. 441
— fulvum, Infektionsversuche, Entwicklungsvorgang in der Wirtspflanze. 441

Cladosporium herbarum, Infektionsversuche, Entwicklungsvorgang in der Wirtspflanze. 441
—, — Ursache des Dunkelwerdens von Roggenkörnern bei der Lagerung. 341
*— —, Vorkommen in humosem Boden, Einfluß der Reaktion. 102
— —, Wachstumsversuche, Einfluß von Metallen, Antagonismus. 159
*Claviceps purpurea, künstliche Infektion von Roggen, Infektionsmaschine. 321
Clostridium-Arten, Darmflora von Nordseeschellfischen. 341
Clostridium acetobutylicum, Sporenbildung, beeinflussende Faktoren. 150
— botulinum, Einfluß der Temperatur flüssiger Luft. 68
— pasteurianum, Sporenbildung, beeinflussende Faktoren. 150
— tetani, Vorkommen in Eingeweiden von Nordseeschellfischen. 341
— welchii, Kultur bei Sauerstoffgegenwart, Einfluß von Ascorbinsäure. 67
Clysia ambiguella, Verwechslung mit Polychrosis botrana. 444
Chaphalodes strobilobius, Auftreten an Lärche. 443
Co-Carboxylase, biologische Tafeln. 279
Coccomyces hiemalis, Bekämpfungsversuche mit verschiedenen Kupfermitteln. 168
Colletotrichum camelliae, Befall des Teestrauches in Indien, Beschreibung, Infektionsversuche. 165
— trifolii, Befall von Serradella, Bekämpfungsmöglichkeiten. 166
Coniophora cerebella, Holzzersetzung, Röntgen-Interferenz-Untersuchungen. 160
— —, Prüfung neuer Holzschutzmittel. 161
Coniosporium Perottianum, Neubeschreibung, Zerstörung von Papier. 339
Contarinia nasturtii, Drehherzkrankheit des Kohls, Biologie u. Bekämpfung. 174
— torquens, Drehherzkrankheit des Kohls, Biologie und Bekämpfung. 174
Corticium salmonicolor, Befall von Eucalyptus und Pappel, Krankheitsbild, Bekämpfung. 348
Court-noué der Reben, Beziehungen zum Reblausbefall. 169
Co-Zymase, biologische Tafeln. 279
Cronartium ribicola, Befall der Weymouthskiefer, Rolle der Spaltöffnungen. 169
Crotalaria juncea, Welkekrankheit durch Fusarium vasinfectum, Untersuchungen. 166
— —, Wirtspflanze für Tabak-Kräuselvirus, Infektionsversuche. 170
Cryptodiaporthe castanea, Ursache des Absterbens von Edelkastanien, Infektionsversuche. 349
Cyanophyceen, Lichteinfluß auf Wachstum. 340
*Cycloposthium bipalmatum, Vorkommen im Pferdeblinddarm. 409
Cydia molesta, Verbreitung, Biologie, Bekämpfung. 445
— pomonella, Biologie, Beziehungen zu der des Apfelbaumes, Bekämpfung. 443
Cylindroiulus teutonicus, Schädigung an Kartoffeln, Biologie und Bekämpfung. 174
Cystopus candidus, Befall von Meerrettich und Capsella, Kreuzinfektionen. 349
Cytophaga, Zellulosezersetzung, Reinkultur, Biologie, Morphologie. 67
Cytospora, Auftreten an Castanea-Zweigkrebs. 80

Dactylella spermatophaga, parasitisches Vorkommen auf Oomyzeten. 85
Dactylium dendroides, Schädigung in Champignonkulturen, Bekämpfung. 165
Darm, menschlicher, Mikroflora. 446
Dasyscypha-Arten, Vorkommen auf Douglastannen, Infektionsversuche. 83
Dattelpalme, „decline - disease" durch Omphalia pigmentata n. sp. und O. tralucida n. sp. 472
Demathophora necatrix, Wurzelschimmel der Reben, Bekämpfungsmöglichkeiten. 81
Dematium pullulans, Wachstumsversuche, Einfluß von Metallen, Antagonismus. 159
Derris, Bekämpfung von Blattwespenlarven an Hopfen. 444
—, Blattlausbekämpfung an Hopfen. 172
—, Erdflohbekämpfung an Hopfen. 171, 172
—, Senfkäfer-Bekämpfung an Brunnenkresse. 175
Desinfektion, Boden-, durch Chlorpikrin, chemische und biologische Faktoren. 75
—, —, — Quecksilbersalze, Bekämpfung von Schorf und Rhizoctonia an Kartoffeln. 87
—, Elektrokatadyn-Verfahren, bakteriologische und hygienische Erfahrungen. 426
—, Grob-, durch Zinol (neues Mittel), Vorteile. 462
—, Mittelprüfung, neue Methoden. 425
—, —, vergleichendes Verfahren. 96
—, —, Wertung der Ergebnisse. 426
—, sporozide Wirkung heißer Sodalösung. 461, 462
Detal, Bekämpfung von Ohrwürmern, Freilandversuche. 288
—, Prüfung als Kontaktgift gegen Nonne. 90
Diazetyl, Bildung durch Zitronensäure vergärende Streptokokken, Einfluß des p_H-Wertes. 70

*Didesmis, Vorkommen im Pferdeblinddarm. 410
Diphtherie, pathogenetische Bedeutung der Kokken und Stäbchenformen des Erregers. 464
Diplodia, Auftreten an Castanea-Zweigkrebs. 80
Diplodina, Auftreten an Castanea-Zweigkrebs. 80
Dipsacus silvestris, Befall durch Pyrenopeziza nigra n. sp. 442
Ditangium, Flora Mitteleuropas. 278
Ditylenchus dipsaci, Befall von Lycoris radiata in U.S.A. 91
Dörrfleckenkrankheit, Wechselwirkung zwischen Kupfer und Mangan. 79
*Dolichos biflorus, Knöllchenbildung, Einfluß der Bakterienstämme und der Umwelt. 289
*— —, Stickstoffbindung, Lichteinfluß. 449
Dolycoris baccarum, Schädigung an Weizen und Gerste. 287
Dorylaimus subtilis, Befall von Lycoris radiata in U.S.A. 91
Dothiorella, Auftreten an Castanea-Zweigkrebs. 80
Douglastanne, Befall durch Dasyscypha-Arten, Infektionsversuche. 83
—, Schüttekrankheit durch Phaeocryptopus Gäumanni, Untersuchungen. 165
Duracet, Kornkäferbekämpfung, Eignung für Braugerste. 288

Edelkastanie, Absterben durch Cryptodiaporthe castanea, Infektionsversuche. 349
—, Zweigkrebs durch Phomopsis, Einfluß der Umwelt. 80
Edelpilz s. Champignon.
Eichenprozessionsspinner, Befall von Weinreben, Bekämpfung. 475
*Einzelsporkulturen, vereinfachte Lindnersche Tröpfchenmethode. 32
Eis, Rahm-, Keimzahlbestimmung, vergleichende Nährbodenuntersuchung. 344
*Eisen, adsorptionschemisches Verhalten des Ferroions. 48
—, Einfluß auf Wachstum von Bodenpilzen. 159
*—, hoher Bedarf eines zellulosezersetzenden Pilzes. 48
Eisensulfat, Bekämpfung der Rebenchlorose, Zitronensäurezusatz. 471
*Eiweiß, Futter-, Erzeugung aus Kohlehydraten und anorganischen Stickstoffsalzen durch Gärung in Silos. 35
—, —, mikrobiologische Synthese aus anorganischen Grundstoffen. 428
Eiweißkörper, physikalische und deskriptive Chemie, biologische Tafeln. 279
Elektrokatadyn-Verfahren zur Trinkwasserdesinfektion, bakteriologische und hygienische Erfahrungen. 426
Endomyces vernalis, Fettbildung, Möglichkeiten der technischen Ausnutzung. 156
—,— Fett- und Fettsäuresynthese. 69
Enterokokken, Typenfrage. 428
Entozon - Infusionen, Heilungsversuche des gelben Galtes. 73
Epicoccum, Auftreten an Castanea-Zweigkrebs. 80
Erbse, Bedeutung der Spurenelemente. 75
—, Heidemoorkrankheit, Bedeutung des Kupfers. 78
—, Herzfleckigkeit, Bekämpfungsversuche mit Mangansulfat. 470
—, Sämlingsfäule durch verschiedene Pilze. 283
—, Schädigung durch Tausendfüßler, Biologie und Bekämpfung des Schädlings. 174
—, Stickstoffbindung durch keimende Samen. 433
—, — und -abgabe an Nichtleguminosen, Mischkulturversuche. 345
—, Wurzelfäule durch Fusarium coeruleum, Infektionsversuche. 350
Erbsenkäfer, Bekämpfung durch Hitze und Schwefeldioxyd. 176
Erdbeere, Befall durch Anguillulina dipsaci in England. 475
—, — — Aphelenchoides fragariae, physiologische Rassen. 474
—, — — Capitophorus fragariae, Biologie und Systematik des Schädlings. 92
Erdflöhe, Bekämpfungsversuche an Hopfen. 171, 172
—, Kohl-, Biologie und Bekämpfung. 171
—, Raps-, Biologie und Bekämpfung. 171
Erdöl, bakteriologische Untersuchungen. 162
Erwinia amylovora, Einfluß der Temperatur flüssiger Luft. 67
— carotovora, Einfluß der Temperatur flüssiger Luft. 67
Erysiphe graminis hordei, biologische Spezialisierung, Testsortiment. 349
— polygoni, Befall von Rotklee in U.S.A. 472
*— umbelliferarum, Befall von Petersilie, biologische Spezialisierung. 60
Esparsette, Verticillium-Welkekrankheit, Auftreten in Deutschland. 350
*Essigsäure, Bodendesinfektion zur Wurzelkropfbekämpfung. 252
Eucalyptus, Befall durch Corticium salmonicolor, Krankheitsbild, Bekämpfung. 348
Eugenia jambos, Befall durch Puccinia psidii in Jamaica, Biotypen. 169
Euproctis chrysorrhoea, Kontrolle und Bekämpfung durch Köderverfahren. 476
Eurygaster austriaca, Schäden an Getreide in der Südslowakei, Bekämpfungsmöglichkeiten. 444

Eurygaster intergriceps, Schädigung an Weizen, Bekämpfung. 172
— —, — — Weizenkörnern. 340
— maura, Schäden an Getreide in der Südslowakei, Bekämpfungsmöglichkeiten. 444
— —, — — Weizen, Bekämpfung. 172
— —, — — Weizen und Gerste. 287
Eutettix tenellus, Übertragung der Rübenkräuselkrankheit, Beziehungen zwischen Zikade und Virus. 170
Exidia, Flora Mitteleuropas. 278
Exkretstoffwechsel der Wirbellosen, biologische Tafeln. 279
Exoascus deformans, Kräuselkrankheit des Pfirsichs, Bekämpfungsversuche. 283
Exodinal, Bekämpfung von Blattwespenlarven an Hopfen. 444

Faserpflanzen, tropische, Literaturzusammenstellung. 64
*Faulbrut, bösartige, der Bienen, bakteriologisch-diagnostische Untersuchung des Erregers. 124
Fermente, chemische Struktur und Eigenschaften. 153
Fett, Bildung durch Endomyces vernalis. 69
—, Gewinnung durch Mikroorganismen, Überblick über bisherige Versuche. 155
Fichte, Rassenfrage in bezug auf Nonnenbefall. 90
Filter, Bakterien-, Gebrauchsfähigkeit. 94
—, Trocken-, lösliches, zur Keimgehaltsbestimmung in Luft. 467
Fische, Schell-, anaerobe Bakterienflora der Eingeweide. 341
Flachs, „Pasmo"-Krankheit (Septoria linicola), Auftreten in Deutschland. 81
—, Saatgut-Beizung mit Arsenpräparat „PD", Erfolge. 81
—, Samenbefall durch Milben im Speicher, Bekämpfung. 176
Flachsröste, chemische und biologische Untersuchungen. 162
Flavobacterium herbicola, Ursache des Dunkelwerdens von Roggenkörnern bei der Lagerung. 341
Fleisch, Verwesungsvorgang, bakteriologische Untersuchungen. 341
Flugbrand, Hafer-, Infektionsversuche mit Sporengemischen. 437
Fomes applanatus, Sporophorenbildung in der Kultur. 466
*Formalin, Bodendesinfektion zur Wurzelkropfbekämpfung. 252
Fruchtfäule, Apfel-, Isolierung und Bestimmung zahlreicher Erreger in Irland. 286
Fruchtsäfte, Sterilisierung, Matzka-Verfahren. 432
Fungi imperfecti, Beitrag zur Flora der Tschecho-Slowakei. 442
Fusarium, Einfluß der Temperatur flüssiger Luft. 68
—, Schädigung in Champignonkulturen, Bekämpfung. 165
—, sekundärer Befall gewelkter Kartoffeln. 471
Fusarium-Arten, Pectase-Tätigkeit. 153
Fusarium avenaceum, Pathogenität an Erbse. 284
— coeruleum, Wurzelfäule - Erreger an Erbse, Infektionsversuche. 350
— culmorum, Pathogenität an Erbse. 284
— graminearum, Pathogenität an Erbse. 284
— javanicum, Ursache von Rosa-Färbung des Pappelholzes. 84
*— oxysporum, Vorkommen in humosem Boden, Einfluß der Reaktion. 102
— —, Wachstumsversuche, Einfluß von Metallen, Antagonismus. 159
— vasinfectum, Baumwollwelke, künstliche Infektionsmethode. 283
— —, Erreger einer Crotalaria - Welke, Untersuchungen. 166
Fusicladium dendriticum, Sporenflug-Kontrolle durch neue Sporenfalle. 82
Fusicoccum, Auftreten an Castanea-Zweigkrebs. 80
— tingens, Ursache von Nadelholz-Verfärbung. 84
— viticolum, Identität mit Phomopsis viticola. 472
*Fusobacterium, Vorkommen im Pferdeblinddarm. 407
Fusobakterien, Nachweis als menschliche Krankheitserreger. 464
Futterhefe, Gewinnung aus rein anorganischen Nährstoffen. 428

Gadus aeglefinus, anaerobe Bakterienflora der Eingeweide. 341
Gärung, alkoholische, Sauerstoffeinfluß. 337
—, Azetonbutyl-, Temperatureinfluß. 153
— des Weinmostes, Änderung des Zitronensäure-Gehaltes. 75
—, Hefe-, Einfluß von Alkoholen und Fuselölen. 336
—, Mannit-, des Weins, Bakterienflora. 432
—, Milchsäure-, beeinflussende Faktoren. 153, 154
*—, Silofutter-, Verlauf. 353
—, Wein-, Beschleunigung durch Stickstoffzusätze. 157
Gallertpilze, Flora Mitteleuropas. 278
Galt, gelber, Heilungsversuche mit Entozon-Infusionen. 73
—, —, Verhütungsversuche mit dem Melkgleitmittel Weidnerit-Gel. 430
Gastrococcus, Isolierung aus Rinderlab, vergleichende Untersuchungen. 149

Gelatine, Gehalt an wachstumsfördernden Substanzen für Bakterien. 334
Gemüsepflanzen, tropische, Literaturzusammenstellung. 64
Geomyza tripunctata, Befall von Gräsern und Weizen, Biologie. 174
Gerste, Heidemoorkrankheit, Bedeutung des Kupfers. 78
—, Mehltaubefall, biologische Spezialisierung des Parasiten, Testsortiment. 349
—, Schädigung durch Wanzenbefall. 287
—, Winter-, Typhula-Fäule, Biologie und Bekämpfung. 80
Getreide, Befall durch Blumenfliege, Bekämpfung durch Teeren des Saatgutes. 90
—, Biochemie, biologische Tafeln. 279
—, Heidemoorkrankheit, Bedeutung des Kupfers. 78
—, Milbenbefall in Speichern. 173
—, Wanzenschäden in der Südslowakei, Bekämpfungsmöglichkeiten. 444
—, Winter-, Saateulenbekämpfung durch Köder. 176
—, Wurzelfäule durch Rhizoctonia solani, Infektionsversuche. 438
Getreidehalmwespe, Biologie und Bekämpfung. 90
Gipskrankheit des Champignons, Bekämpfung. 165
Glaucoma pyriformis, Beziehungen zu Vitamin B_1. 463
Glomerella cingulata, Testobjekt für Prüfung von Kupfer-Fungiziden. 163
Glutaminsäure, Wuchsstoffwirkung auf Hefe. 336
Glycyphagus destructor, Auftreten an Hafer und Sonnenblumenkernen im Speicher. 173
— —, Befall von Zuckerrübensamen, Bekämpfung. 173
— ornatus, Befall von Zuckerrübensamen, Bekämpfung. 173
Gold, Fernwirkung auf Mikroorganismen. 462
Goldafter, Kontrolle und Bekämpfung durch Köderverfahren. 476
Goldfisch, Giftwirkung von Phenothiazin. 164
Gräser, Befall durch Geomyza tripunctata, Biologie des Schädlings. 174
—, — — Pythium - Arten, antagonistische Wirkung anderer Pilze. 439
Gramineen, Befall durch Phytomonas Stewarti, Biotypen des Parasiten. 286
—, Gehalt an wachstumshemmenden Stoffen für Bakterien. 346
Graphium penicillioides, Ursache von Nadelholz-Verfärbung. 84
— silanum, Ursache von Nadelholz-Verfärbung. 84
— ulmi, Ausbreitung und Infektionsversuche an Sämlingen in Holland. 351
Grosmannia Ips, Ursache von Nadelholz-Verfärbung. 84
— serpens, Ursache von Nadelholz-Verfärbung. 84
Grünalgen, Lichteinfluß auf Wachstum. 340
Grünspankrankheit des Champignons, Bekämpfung. 165
Guignardia camelliae, Befall des Teestrauches in Indien, Beschreibung, Infektionsversuche. 165
Gymnoconia peckiana, Testobjekt für Prüfung von Kupfer-Fungiziden. 163

Hafer, Flugbrandbefall, Infektionsversuche mit Sporengemischen. 437
—, Heidemoorkrankheit, Bedeutung des Kupfers. 78
—, Milbenbefall im Speicher. 173
*—, Nematodenbefall, Biologie des Schädlings. 394
—, Wanzenschäden in der Südslowakei, Bekämpfungsmöglichkeiten. 444
—, Wurzelfäule durch Rhizoctonia solani, Infektionsversuche. 438
Hainesia Zavřelii Ignatii, Neubeschreibung, Befall von Lythrum salicaria. 442
Hallimasch, Befall von Rhododendron, Rassen des Pilzes, unterschiedliche Anfälligkeit der Wirtspflanzen. 441
Hanffloh, Bekämpfung, Wirksamkeit der Locksaaten. 174
Haselnuß, Befall durch Phyllactinia corylea, Zytologie und Entwicklung des Pilzes. 167
Hefe, Ausschüttelung des Faktors Z und der Bios-Wuchsstoffe aus Würze. 336
—, Bedeutung von Vitamin B_6 (Adermin) als Wuchsstoff. 470
—, Einfluß auf Zitronensäuregehalt des Weinmostes. 75
—, — der Rassen auf die Schaumhaltigkeit des Bieres. 281
—, — von Alkoholen und Fuselölen. 336
—, elektrische Ladung, Bedeutung für die Bruchbildung. 344
—, Fernwirkung von Metallen. 462
—, Fett- und Fettsäuresynthese. 69
—, Flora im Brinsenkäse. 344
—, Herstellung neuer Rassen durch Kreuzung. 335
—, Keimgehalt der Butter und p_H-Wert. 469
*—, Milchnähr-, Herstellung aus Kefirpilzen. 375
—, pathogene Formen, Infektionsversuche. 466
—, physikalische Beschaffenheit der Zellen. 159
—, Stickstoffassimilation, Einfluß von Bios. 69
—, Stickstoffaufnahme und -ausscheidung, Wuchsstoffeinflüsse. 429

Hefe, Stickstoffausscheidung bei tiefer Temperatur. 281
—, Verhalten im magnetischen Felde. 151
—, Wein-, Gärbeschleunigung durch Stickstoffzusätze. 157
—, Wuchsstoffbedarf. 338
—, Wuchsstoffwirkung von Aminosäuren. 336, 338
—, Zusatz bei der Grünfuttersilierung, Erhöhung des Eiweißgehaltes. 283
Heidemoorkrankheit, Krankheitserscheinungen, Bedeutung des Kupfers. 78
Helminthosporium ocellum, Erreger der Augenfleckenkrankheit an Pennisetum purpureum. 351
— sativum, Pathogenität an Erbse. 284
Helotium moravicum, Neubeschreibung, Vorkommen auf Ästen in der Tschecho-Slowakei. 442
Hendersonia opuntiae, Beziehungen zu Leptosphaeria opuntiae n. sp. 85
— theicola, Befall des Teestrauches in Indien, Beschreibung, Infektionsversuche. 165
Herznekrose der Kartoffel, Übertragbarkeit, Viruskrankheit. 352
Herzschlagmessungen an Insekten zum Studium von Giftwirkungen. 445
Herz- und Trockenfäule der Rüben, Bedeutung des Bors. 471
*Heterodera schachtii major, Biologie, Frage der Kümmerformen. 394
Hibiscus rosa-sinensis, Wirtspflanze für Tabak-Kräuselvirus, Infektionsversuche. 170
Hirse, Milbenbefall im Speicher. 173
—, Mohren-, Staubbrand, Heterothallismus des Erregers. 339
Holz, Literatur über tropische Nutzhölzer. 64
—, Verfärbung durch Pilze. 84
—, Zersetzung durch Pilze, Röntgen-Interferenz-Untersuchungen. 160
*Holzessig, Bodendesinfektion zur Wurzelkropfbekämpfung. 252
Holzschutzmittel, Prüfung neuer Mittel nach der Klötzchenmethode. 161
Homarus americanus, epidemische Schalenkrankheit, Auftreten chitinabbauender Bakterien. 446
Homopteren, Bakteriensymbiose, Morphologie und Protoplasmatik der Symbionten, Kulturversuche. 447
Honig, Bienen-, bakterizide Wirkung. 431
*Hopfen, Befall mit Penicillium humuli n. sp. 392
—, Blattlaus-Bekämpfungsversuche. 172
—, Erdfloh-Bekämpfungsversuche. 171, 172
—, Peronospora-Befall, Prüfung von Bekämpfungsmitteln. 285
—, — · —, — — Bekämpfungsmitteln, neue Methoden. 435
Hopfen, Schädigung durch Blattwespenlarven, Bekämpfungsversuche. 443
Hormidium nitens, Lichteinfluß auf Wachstum. 340
Hormone, Sexual-, biologische Tafeln. 279
Hummer, epidemische Schalenkrankheit, Auftreten chitinabbauender Bakterien. 446
Hura crepitans, Befall durch Cercosporella Hurae n. sp. 82
Huslanka, chemische und mikrobiologische Untersuchungen. 156

Inhibine, Vorkommen im Honig, Ursache seiner bakteriziden Wirkung. 432
Insekten, Bakteriensymbiose, Protoplasmatik und Morphologie der Symbionten, Kulturversuche. 447
—, Herzschlagmessung zum Studium von Giftwirkungen. 445
—, Kontrolle und Bekämpfung von Schmetterlingen durch Köderverfahren. 475
*Ionenzuchtwahl zur Erzielung absoluter Pilzreinkulturen. 55

Janusgrün, Reduktion durch Streptokokken und Laktobazillen. 71
Johannisbeere, Befall durch Pseudopeziza ribis, Infektionsbedingungen, Reinkultur des Parasiten. 82

Käse, Backstein-, Spaltung durch anormale Gasbildung. 470
—, Brinsen-, Herstellung, chemische und bakteriologische Zusammensetzung. 344
—, Gorgonzola-, Herstellung in Rußland. 74
—, Herstellung mittels Alkohol-Glyzerin-Auszug aus Labmägen, Vorteile. 74
—, — — zähflüssigem Säurewecker. 343
*—, Isolierung von Propionibacterium rubrum, Physiologie, Farbbildung. 107
—, Schweizer-, Spätblähung, Ursachen, unterschiedliches Auftreten. 431
—, Tilsiter-, Gehalt an Propionsäurebakterien. 157
*—, —, Vorkommen von B. proteus, fluorescens und alcaligenes, umfassende Untersuchungen. 177
—, Vergiftung durch Bacterium coli. 156
Kalisalze, Einfluß auf Schorfbefall der Kartoffel. 86
*Kaliumpersulfat, Bodendesinfektion zur Wurzelkropfbekämpfung. 252
Kalziumarsenat, Bekämpfung der Wintersaateule. 176
Kapselbakterien, Stellung der Sklerombakterien. 465
Kartoffel, Abbau, Brauchbarkeit der Bechholdschen Kupferblechprobe. 442
—, Beizung, Anwendungsmöglichkeiten und Erfolgsaussichten. 86

Kartoffel, Heidemoorkrankheit, Bedeutung des Kupfers. 78
—, Herzfäule durch Sclerotinia sclerotiorum. 347
—, Herznekrose, Übertragbarkeit, Viruskrankheit. 352
—, Krautfäule, Beziehungen zum Phytophthora-Befall der Tomaten. 435
—, physiologische Welkekrankheit in Mähren. 471
—, Phytophthora - Befall, biologische Spezialisierung des Parasiten, Resistenzzüchtung. 347
—, — - Resistenz, Infektionsmethode. 285
—, Pockenkrankheit, Bekämpfungsmöglichkeiten. 86
—, Resistenzzüchtung gegen Krautfäule in U. S. A. 85
—, Rhizoctonia - Befall, Bekämpfungsmöglichkeiten. 86
—, Schädigung durch Tausendfüßler, Biologie und Bekämpfung des Schädlings. 174
—, Schorf, Bekämpfungsmöglichkeiten. 86
—, —, Einfluß der Kalisalzdüngung. 86
—, Spritzungen mit Kupferkalkbrühe, Einfluß auf Ertrag, Qualität und Schorfbefall. 86
—, Viruskrankheiten, Beziehungen zur Verbreitung von Myzus persicae. 171
—, Wild-, Widerstandsfähigkeit gegen den Kartoffelkäfer. 175
—, X-Virus, chemische Untersuchungen. 152
Kartoffelkäfer, Ähnlichkeit der Larven mit denen des Lilienhähnchens. 175
—, Ausbreitung in Europa 1936. 89
—, Biologie und Physiologie, neuere Ergebnisse. 175
Kastanie, Edel-, Absterben durch Befall mit Cryptodiaporthe castanea, Infektionsversuche. 349
Katalase, chemische Struktur und Eigenschaften. 153
Kathodenstrahlen, Einfluß auf Aspergillus niger, Mutantenbildung. 339
Kautschukpflanzen, tropische, Literaturzusammenstellung. 64
*Kefermon, Einfluß auf Milchsäurebakterien-Wachstum. 375
*Kefirpilze, Massengewinnung aus Molke. 375
*Kefirpulver, Einfluß auf Milchsäurebakterien-Wachstum. 375
Kiefer, Befall durch Peridermium-Rasse, Morphologie und Parasitismus des Pilzes. 83
—, Weymouths-, Befall durch Cronartium ribicola, Rolle der Spaltöffnungen. 169
—, —, Sämlingsbefall durch Polyporus schweinitzii, bedingende Faktoren. 83
Kieselgel als Substrat zur Reinkultur von Zellulosezersetzern. 67
Kirsche, Befall durch Cydia molesta, Verbreitung, Biologie und Bekämpfung des Schädlings. 445
Klee, Rot-, Mehltaubefall (Erysiphe und Microsphaera) in U. S. A. 471
—, Weiß-, Befall durch Rübennematoden. 90
Klopfkäfer, Biologie. 93
Knöllchenbakterien, Ausscheidung von Asparaginsäure und β-Alanin. 346
*—, Einfluß der Bakterienstämme und der Umwelt auf Knöllchenbildung und Stickstoffbindung. 289
—, Förderung durch Spurenelemente. 75
—, N - Abgabe an Nichtleguminosen, Mischkulturversuche. 345, 346
*—, physiologische Untersuchungen 1, 68, 133
*—, Stickstoffbindung, Lichteinfluß. 449
—, Unwirksamkeit der Samenimpfung bei Dauerlupinen. 345
—, Wachstumsförderung durch Vitamin B_1. 332
—, Wechselbeziehungen zwischen Wirtspflanze und Bakterienstamm. 346
—, Zelleinschlüsse und Lebenskreislauf. 332
Kochsalz, Bekämpfung der Kohldrehherzmade. 174
Kohl, chinesischer, Mosaikkrankheit, Krankheitsbild, Insektenübertragung. 474
—, Drehherzkrankheit, Biologie und Bekämpfung des Schädlings. 174
Kohlgallenrüßler, Biologie und Bekämpfung. 171
Kohlschotenrüßler, Biologie und Bekämpfung. 171
Konserven, Herings-, Sterilisation und Roheinbüchsen. 468
Konservierung, Lebensmittel-, durch Ultrakurzwellen, Versuche. 155
—, Wurst-, Verwendung von katadynisiertem Wasser. 426
Kontra, Bekämpfung von Blattwespenlarven an Hopfen. 444
Kornkäfer, Bekämpfungsversuche mit Montanin. 445
—, — — — und Duracet. 288
Kräuselkrankheit der Rübe, Beziehungen zwischen dem Virus und seinem Überträger. 170
— — Zuckerrübe, unterschiedliche Virusstämme. 473
— des Pfirsichs, Bekämpfungsversuche. 283
— — Tabaks in Indien, Übertragungsversuche, Wirtspflanzenbereich. 170
Krebs, Pappel-, durch Pseudomonas rimaefaciens n. sp., Beschreibung, Anfälligkeit der Pappelarten. 351
—, Zweig-, an Castanea, Ursachen. 80

Kreide, Milbenbekämpfung auf Speichern. 176
Kresse, Brunnen-, Schädigung durch Senfkäfer, Bekämpfung. 175
Kühllagerung, Butter-, Einfluß auf Keimgehalt. 73
—, —, — der Herstellungsart (aus Sauer- oder Süßrahm). 281
—, —, — — Qualität, bakteriologische Untersuchungen. 280
Kürbis, Mosaikkrankheit in Italien, Übertragung durch Blattläuse. 88
Kunstdüngemittel, Einfluß auf Sekundärinfektionen der Haut durch Eitererreger. 448
Kupfer, Bedeutung für das Wachstum von Pflanzen und Mikroorganismen. 78
—, Fernwirkung auf Mikroorganismen. 462
—, Nachweis im Boden mittels Aspergillus niger. 78
—, Wechselwirkung mit Mangan, Bedeutung für die Dörrfleckenkrankheit. 79
Kupferkalkbrühe, Bekämpfung der Kräuselkrankheit des Pfirsichs. 283
—, — — Rebenperonospora in Frankreich. 80
—, — des Wildfeuers des Tabaks. 88
—, — von Hopfen-Peronospora. 285
—, Ersatz durch andere Kupfermittel, Versuche. 163
—, Kartoffelspritzungen, Einfluß auf Ertrag, Qualität und Schorfbefall. 86
—, Löslichkeitsverhältnisse nach der Spritzung. 163
—, Theorien über die Wirkung. 164
—, Wirkung auf Mycosphaerella fragariae. 284
Kupferverbindungen, verschiedene, als Ersatz für Kupferkalkbrühe, Versuche. 163
—, —, zur Bekämpfung von Pilzkrankheiten im Obstbau. 168
Kurzwellen, quantitative Einwirkungen auf Bakterien. 94

Lab, Alkohol-Glyzerin-Auszüge, Vorteile bei der Käseherstellung. 74
Lachnus laricis, Ursache von Trieberkrankung der Lärche. 443
Lackmus, Reduktion durch Streptokokken und Laktobazillen. 71
Lackviole, Mosaikkrankheit in Italien, Beschreibung, Übertragungsversuche. 88
Lactarii, Flora Mitteleuropas. 278
Lactobacillus pentoaceticus, Isolierung aus Silofutter, vergleichende physiologische Untersuchungen. 159
— plantarum, Isolierung aus Silofutter, vergleichende physiologische Untersuchungen. 159
Lärche, Trieberkrankung durch Lachnus laricis. 443
Laktobazillen, Reduktionsvermögen gegenüber 5 O/R-Indikatoren. 71
Laktoflavin, Vorkommen bei verschiedenen Bakterien. 467
Laubhölzer, Spinnmilbenbekämpfung. 476
Lebensmittel, Konservierung durch Ultrakurzwellen, Versuche. 155
—, Ursache enteritischer Massenerkrankungen. 429
Leguminosen, Ausscheidung von Asparaginsäure und β-Alanin aus den Knöllchen. 346
—, Bedeutung der Spurenelemente. 75
—, Gehalt an wachstumsfördernden Stoffen für Bakterien. 346
—, Stickstoffbindung durch keimende Samen. 433
—, — und -abgabe an Nichtleguminosen, Mischkulturversuche. 345, 346
Lein s. Flachs
Lenzites abietina, Prüfung neuer Holzschutzmittel. 161
Lepidopteren, Kontrolle und Bekämpfung durch Köderverfahren. 475
Lepismatiden, Zerstörung von Papierwaren, Biologie, Bekämpfung. 161
Leptosphaeria opuntiae, Neubeschreibung, Beziehungen zu Hendersonia opuntiae. 85
Leuconostoc mesenteroides, Einfluß der Kulturbedingungen und des Nährbodens. 149
Leuchtbakterien, Lichtproduktion und Atmung. 66
Lianol, Bekämpfung von Blattwespenlarven an Hopfen. 444
Licht, Einfluß auf Farbstoffbildung von Penicillium funiculosum. 152
—, — — Wachstum von Blau- und Grünalgen. 340
Lignin, Einfluß auf mikrobiologische Zellulosezersetzung. 161
Lilienhähnchen, Ähnlichkeit der Larven mit denen des Kartoffelkäfers. 175
Lilioceris lilii, Ähnlichkeit der Larven mit denen des Kartoffelkäfers. 175
*Lindnersche Tröpfchenmethode, Vereinfachung. 32
Lonchocarpus, Befall durch Pucciniopsis Lonchocarpi n. sp. 82
Luft, Keimgehalt in verschiedener Höhe über dem Arbeitsplatz. 467
Luminoflavin, Vorkommen bei verschiedenen Bakterien. 467
Lupine, Bedeutung der Spurenelemente. 75
—, Dauer-, Wachstumsversuche, Samenimpfung mit verschiedenen Bakterienimpfmitteln. 345
—, Ertragserhöhung durch Zusatz von Lupinen- und Kleewurzelmehl. 433
—, Schädigung durch Tausendfüßler, Biologie und Bekämpfung des Schädlings. 174

Luzerne, Befall durch Pythium-Arten, antagonistische Wirkung anderer Pilze. 439
—, Verticillium - Welkekrankheit, Auftreten in Deutschland. 350
Lycoris radiata, Befall durch Nematoden-Arten in U. S. A. 91
Lymantria dispar, Kontrolle und Bekämpfung durch Köderverfahren. 476
— monacha, Biologie, Epidemiologie, Bekämpfung. 89
Lysin, Wuchsstoffwirkung auf Hefe. 336
Lythrum salicaria, Befall durch Hainesia Zavřelii Ignatii n. sp. 442

Machaerium Moritzianum, Befall durch Periconia Toroi n. sp. 82
Macrophoma, Auftreten an Castanea-Zweigkrebs. 80
Magnesiumlegierungen, Unbrauchbarkeit in der Brauerei. 432
Maikäfer, Vergrämung der Weibchen, Versuche. 175
Mais, Befall durch Phytomonas Stewarti, Biotypen des Parasiten. 286
—, — — — —, Variantenbildung des Parasiten. 87
—, Brandbefall, physiologische Untersuchung des Erregers. 436
Malvastrum, Befall durch Ramularia Malvastri n. sp. 82
Mammococcus, Isolierung aus Milch, vergleichende Untersuchungen. 149
Mandel, Befall durch Cydia molesta, Verbreitung, Biologie und Bekämpfung des Schädlings. 445
Mangan, Einfluß auf Leguminosen in Verbindung mit Nitragin. 75
—, Wechselwirkung mit Kupfer, Bedeutung für die Dörrfleckenkrankheit. 79
Mangansulfat, Bekämpfung der Herzfleckigkeit der Erbsen. 470
*Margarine, Vorkommen von Margarinomyces luteo-viridis n. sp. 381
*Margarinomyces fasciculatus, Neubeschreibung, Vorkommen in Butter. 384
*— Hoffmannii, Neubeschreibung, Vorkommen in Butter. 386
*— luteo-viridis, Neubeschreibung, Vorkommen in Butter und Margarine. 381
Marsonia moravica, Beschreibung, Befall von Anemone ranunculoides. 442
Matzka-Verfahren zur Sterilisierung von Fruchtsäften. 432
Meerrettich, Schwärze und Cystopus-Befall, Bekämpfungsmöglichkeiten. 349
Mehltau, falscher, der Reben, Bekämpfung in Frankreich, zusammenfassende Darstellung. 80
—, Gersten-, biologische Spezialisierung, Testsortiment. 349
—, Reben-, Bekämpfung durch „Novemol" in Frankreich. 92
Meligethes aeneus, Biologie und Bekämpfung. 171
Melilotus-Arten, Impfversuche mit Rhizobium meliloti, Beziehungen zwischen Wirt und Bakterienstamm. 346
Mentha s. Pfefferminze.
Merulius domesticus, Prüfung neuer Holzschutzmittel. 161
— lacrimans domesticus, Holzzersetzung, Röntgen - Interferenz - Untersuchung. 160
Mesocerus marginatus, Schäden an Getreide in der Südslowakei, Bekämpfungsmöglichkeiten. 444
Metalle, Fernwirkung auf Mikroorganismen. 462
Methylenblau, Entfärbung in sterilisierter Milch durch Strept. thermophilus und Bact. coli. 342
—, Reduktion durch Streptokokken und Laktobazillen. 71
Micrococcus pyogenes aureus, quantitativer Einfluß von Kurzwellen. 94
Microsphaera alni, Befall von Rotklee in U. S. A. 472
Mikromyzes, Nachweis in der freien Natur, Kultur, Morphologie. 426, 427
Mikroorganismen, Bedeutung des Kupfers für das Wachstum. 78
—, Beziehungen zu Vitamin B_1. 463
—, Boden-, Abhängigkeit von Temperatur und Wassergehalt des Bodens. 434
—, —, Einfluß auf Kalzium- und Phosphor-Kreislauf bei Harnstoffdüngung. 434
—, —, — von Chlorpikrin. 75
—, Fernwirkung von Metallen. 462
—, filtrierbare, Vorkommen in der Natur, Isolierung, Beschreibung. 426, 427
*—, Flora des Pferdeblinddarmes. 400
—, Keimgehalt der Butter, Bedeutung für die Kühllagerung. 280, 281
*—, Reinkultur, vereinfachte Lindnersche Tröpfchenmethode. 32
—, zellulosezersetzende, Reinkultur, Biologie, Morphologie. 67
Milben, Befall von Leinsamen im Speicher, Bekämpfung. 176
—, — — Zuckerrübensamen, Bekämpfung. 173
—, Getreide-, Auftreten in Speichern. 173
—, Spinn-, Bekämpfung an Gehölzen. 476
Milch, bakteriologische Untersuchung mit neuem Tryptonagar, günstige Ergebnisse. 469
—, Coli-aerogenes-Gehalt, vergleichende Nährbodenprüfung. 342
—, erstickte, Ursachen. 280
—, Galtinfektion, Einfluß auf Qualität. 73

Milch, hygienische Untersuchung, Phosphatase- und Coli-Probe und direkte mikroskopische Keimzählung. 342
—, Keimgehaltsverminderung durch Ultrakurzwellen. 155
—, Keimzahlbestimmung auf Nährboden aus trypsinverdauter Magermilch. 71
—, Methylenblau - Entfärbung durch Strept. thermophilus und Bact. coli. 342
—, pasteurisierte und Roh-, Gehalt an hämolytischen Streptokokken. 279
—, Pasteurisierung, Anwendung von Strom mit Ultrakurzwellen. 430
—, serologische Untersuchung zur Erkennung der Eutertuberkulose. 430
—, Übertragung des Scharlacherregers, Ursache für Epidemie. 469
Milchkannen, Entkeimung in Heißluft-Sterilisatoren. 72
Milchlinge, Flora Mitteleuropas. 278
Milchsäure, Bildung durch Rhizopus-Arten. 70
Miris dolabratis, Schäden an Getreide in der Südslowakei, Bekämpfungsmöglichkeiten. 444
Mohrenhirse, Staubbrand, Heterothallismus des Erregers. 339
Molybdän, Einfluß auf Leguminosen in Verbindung mit Nitragin. 75
Monilia fimicola, Schädigung in Champignonkulturen, Bekämpfung. 165
Montanin, Kornkäferbekämpfung, Versuche. 445
—, —, widersprechende Versuchsergebnisse. 288
Mortierella, Einfluß der Temperatur flüssiger Luft. 68
*— polycephala, Vorkommen in humosem Boden, Einfluß der Reaktion. 101
*— pusilla, Vorkommen in humosem Boden, Einfluß der Reaktion. 101
Mosaikkrankheit der Lackviole in Italien, Beschreibung, Übertragungsversuche. 88
— — Limabohne, Beziehungen zum Gurkenmosaik, Sortenanfälligkeit. 472
— des chinesischen Kohls, Insektenübertragung, lokaler Befall an Tabak. 474
— — Kürbis in Italien, Übertragung durch Blattläuse. 88
— — Sellerie in Italien, Übertragung durch Blattläuse. 88
— — Zuckerrohrs, Übertragung durch Toxoptera graminum. 473
Mucor, Einfluß der Temperatur flüssiger Luft. 68
*— hiemalis, Vorkommen in humosem Boden, Einfluß der Reaktion. 101
— Ramannianus, Beziehungen zu Vitamin B_1. 463
Mucorineen, Beteiligung an der Tropfkörperverschlammung bei der Abwasserreinigung. 276
Mutationen, Auftreten bei Bakterien (Aerobacter). 429
*Mutterkorn, Kulturversuche, Infektionsmaschine. 321
Myceliophthora lutea, Schädigung in Champignonkulturen, Bekämpfung. 165
Mycobacterium hyalinum, Veränderlichkeit, Rassen- und Mutantenbildung. 333
— tuberculosis, Einfluß der Temperatur flüssiger Luft. 68
— viride, Veränderlichkeit. 333
Mycoderma, Rolle bei der Herstellung obergäriger belgischer Biere. 282
— vini, Verminderung des Zitronensäuregehaltes des Weinmostes. 75
Mycogone perniciosa, Schädigung in Champignonkulturen, Bekämpfung. 165
Mycosphaerella fragariae, Wirkung von Kupferkalkbrühe. 284
— rosicola, Neubeschreibung, Blattfleckenerreger an Rose. 441
Mykobakterien, Veränderlichkeit, Rassen- und Mutantenbildung. 333
Myxobakterien, zellulosezersetzende, Reinkultur, Biologie, Morphologie. 67
Myxococcus, antagonistische Wirkung gegenüber Verticillium dahliae. 283
Myxomyzeten, Beitrag zur Flora der Tschecho-Slovakei. 441
—, Nährbodeneinfluß auf Aktivität der Schwärmer. 335
Myzus persicae, Beziehungen zur Verbreitung der Viruskrankheiten der Kartoffel. 171
— —, Übertragung der Mosaikkrankheit des chinesischen Kohls. 474

Nährböden aus trypsinverdauter Magermilch zur Milchkeimzahl-Bestimmung. 71
—, Chitin-Agar für Aktinomyzeten-Kultur. 466
—, Endo-Agar zum Coli-Nachweis. 76
—, Hefewasser-, für Sporenbildung von Pseudospeziza ribis. 83
—, Kieselgel-, zur Reinkultur von Zellulosezersetzern. 67
—, Pektin-, als Agar-Ersatz. 94
—, p_H-Messung, Methodik und Fehlerquellen. 95
—, Polyvinylalkohol-, als Agarersatz. 425
—, Spezial-, für Keimzahlbestimmung in Rahmeis, vergleichende Untersuchungen. 344
—, Tryptonagar für Milchuntersuchungen, günstige Ergebnisse. 469
— zum Coli aerogenes-Nachweis, vergleichende Untersuchungen. 342
*— zur Trennung von Pilzen und Bakterien. 55
Naphthalin, Bekämpfung der Kohldrehherzmade. 174
—, Milbenbekämpfung auf Speichern. 176

Naphthalin, Vergrämung der Maikäferweibchen. 175
Natriumfluorid, Bekämpfung der Wintersaateule. 176
Nematoden, Auftreten von Sporozoen. 446
*—, Hafer-, Biologie, Frage der Kümmerformen. 394
—, Rüben-, Vorkommen an Weißklee. 90
—, Vorkommen in Tropfkörpern bei der Abwasserreinigung. 276
Nematologie, Handbuch. 64
Nematospora gossypii, Kulturversuche mit verschiedenen Stickstoffquellen. 168
Neutralrot, Reduktion durch Streptokokken und Laktobazillen. 71
Nickel, Einfluß auf Wachstum von Bodenpilzen. 159
Niketin, Bekämpfung der Kohldrehherzmade. 174
—, — von Blattwespenlarven an Hopfen. 444
—, Blattlausbekämpfung an Hopfen. 172
—, Erdflohbekämpfung an Hopfen. 172
Nikotinsulfat, Traubenwickler-Bekämpfung in Frankreich. 92
Nitragin, Einfluß auf Leguminosen in Verbindung mit Spurenelementen. 75
—, Gewinnung aus Wurzeln von Lupine und Klee. 433
*Nitrifikation im Boden, Einfluß der Reaktion. 97
Nonne, Biologie, Epidemiologie, Bekämpfung. 89
—, Kontrolle und Bekämpfung durch Köderverfahren. 475
Novemol, Traubenwickler- und Mehltaubekämpfung in Frankreich. 92
Nutzpflanzen, tropische, Kultur, Krankheiten, Schädlinge, Literaturzusammenstellung. 64

Obst, tropisches, Literaturzusammenstellung. 64
*Obstbäume, Kern-, Wurzelkropf, Bekämpfungsmöglichkeiten, umfassende Untersuchungen. 210
Ölfrüchte, Schädlinge, Biologie und Bekämpfung. 171
Ölpflanzen, tropische, Literaturzusammenstellung. 64
Oenanthis aquatica, Befall durch Septoria oenanthis n. sp. 442
Ohrwurm, Bekämpfung mit Detal, Freilandversuche. 288
Oidium farinosum, zusammenfassende Abhandlung. 167
— lactis, Fettbildung, Möglichkeiten der technischen Ausnutzung. 156
Oligodynamie, Theorie und Praxis. 95
Omphalia pigmentata, Neubeschreibung, Ursache der „decline-disease" der Dattelpalme. 472
Omphalia tralucida, Neubeschreibung, Ursache der „decline-disease" der Dattelpalme. 472
Onobrychis sativa s. Esparsette.
Onopordon acanthium, Befall durch Ascochyta Zavřelii Ignatii n. sp. 442
Oospora fimicola, Schädigung in Champignonkulturen, Bekämpfung. 165
Ophiobolus graminis, Schwarzbeinigkeit an Weizen, Beziehungen zwischen Wurzel-, Halmgrund- und Halmbefall. 283
— heterostrophus, Pathogenität an Erbse. 284
Ophiostoma piliferum, Ursache von Nadelholz-Verfärbung. 84
Osmotische Zustandsgröße, Messung in pflanzlichen Zellen und Geweben. 63

Palme, Dattel-, „decline-disease" durch Omphalia pigmentata n. sp. und O. tralucida n. sp. 472
Palomena prasina, Schädigung an Gerste und Weizen. 287
Papier, Zerstörung durch Mikroorganismen. 339
—, — — Silberfischchen, Biologie und Bekämpfung des Schädlings. 161
Pappel, Befall durch Corticium salmonicolor, Krankheitsbild, Bekämpfung. 348
—, Krebs durch Pseudomonas rimaefaciens n. sp., Beschreibung, Anfälligkeit der Pappelarten. 351
*Paraisotricha Kolpoides, Vorkommen im Pferdeblinddarm. 410
Parasetigena segregata, Parasit der Nonne, Bedeutung als biotischer Umweltsfaktor. 90
Parasitella simplex, Beziehungen zu Vitamin B_1. 463
Pasteurisierung, Milch-, Anwendung von Strom mit Ultrakurzwellen. 430
—, —, Phosphatase- und Coli-Probe und direkte mikroskopische Keimzählung. 342
Pektin als Agar-Ersatz in der Bakteriologie. 94
Penicillium, Einfluß der Temperatur flüssiger Luft. 68
*— commune, Vorkommen in humosem Boden, Einfluß der Reaktion. 101
— expansum, antagonistische Wirkung auf Pythium-Arten. 439
*— —, Vorkommen in humosem Boden, Einfluß der Reaktion. 101
— —, Wachstumsversuche, Einfluß von Metallen, Antagonismus. 159
— funiculosum, Farbstoffbildung, Einfluß des Lichtes. 152
*— humuli, Neubeschreibung, Vorkommen auf Hopfen. 392
— italicum, Wachstumsversuche, Einfluß von Metallen, Antagonismus. 159

*Penicillium luteum, Vorkommen in humosem Boden, Einfluß der Reaktion. 101
— —, Wachstumsversuche, Einfluß von Metallen, Antagonismus. 159
— notatum, Wachstumsversuche, Einfluß von Metallen, Antagonismus. 159
*— restrictum, Vorkommen in humosem Boden, Einfluß der Reaktion. 101
— roqueforti, Rolle bei der Gorgonzola-Bereitung. 74
*— turbatum, Vorkommen in humosem Boden, Einfluß der Reaktion. 101
Pennisetum purpureum, Augenfleckenkrankheit durch Helminthosporium ocellum. 351
Periconia toroi, Neubeschreibung, Blattfleckenerreger an Machaerium Moritzianum. 82
Peridermium-Rasse, Befall der Kiefer, Morphologie und Parasitismus. 83
Periplaneta americana, Herzschlagmessung zum Studium von Giftwirkungen. 445
Peronospora, Hopfen-, Prüfung von Bekämpfungsmitteln. 285
—, —, — — Bekämpfungsmitteln, neue Methoden. 435
—, Reben-, Bekämpfung in Frankreich, zusammenfassende Darstellung. 80
— destructor, Sporenverbreitung durch den Wind. 168
Peronosporaceen auf Runkelrübe, Kartoffel und Rebe, vergleichende Untersuchungen. 85
Peroxydase, chemische Struktur und Eigenschaften. 153
Pestalozzia theae, Befall des Teestrauches in Indien, Beschreibung, Infektionsversuche. 165
*Petersilie, Mehltaubefall, Sortenanfälligkeit. 60
Petunia, Wirtspflanze für Tabak-Kräuselvirus, Infektionsversuche. 170
Pfefferminze, Blatt- und Stengelflecke durch Sphaceloma-Art, Biologie des Erregers. 81
*Pferd, Mkrobiologie des Blinddarmes. 400
Pfirsich, Befall durch Tranzschelia prunispinosae, morphologisch unterscheidbare Formen des Pilzes. 351
—, Kräuselkrankheit, Bekämpfungsversuche. 283
Pfirsichtriebbohrer, Verbreitung, Biologie, Bekämpfung. 445
Pflanzen, Bedeutung des Kupfers für das Wachstum. 78
Pflanzenkrankheiten, Resistenzzüchtung, Handbuch. 278
Pflaume, Befall durch Cydia molesta, Verbreitung, Biologie und Bekämpfung des Schädlings. 445
Phaedon cochleariae, Schädigung an Brunnenkresse, Bekämpfung. 175
Phaeocryptopus Gäumanni, Schädigung an Douglasien. 165
Phaseolus lunatus macrocarpus, Mosaikkrankheit, Beziehungen zum Gurkenmosaik, Sortenanfälligkeit. 472
*— radiatus, Knöllchenbildung, Einfluß der Bakterienstämme und der Umwelt. 289
Phenol, Bekämpfung des Apfelmehltaues. 168
*—, Bodendesinfektion zur Wurzelkropfbekämpfung. 252
—, Prüfung als Desinfektionsmittel, Methodik. 425
Phenothiazin, Giftwirkung auf Goldfische. 164
Philaenus spumarius, Bakteriensymbiose, Morphologie und Protoplasmatik der Symbionten, Kulturversuche. 447
Phoma, Auftreten an Castanea-Zweigkrebs. 80
— cartae, Neubeschreibung, Zerstörung von Papier. 339
— Puttemansii, Neubeschreibung, Fruchtfleckenerreger an Citrus. 347
— theicola, Befall des Teestrauches in Indien, Beschreibung, Infektionsversuche. 165
Phomopsis, Zweigkrebs an Castanea, Infektionsversuche. 80
— viticola, Stengelnekrosen an Reben, Identität mit Fusicoccum viticolum. 472
Phycomyces, Beziehungen zu Vitamin B_1. 463
Phykomyzeten, Beitrag zur Flora der Tschechoslowakei. 441
Phyllactinia corylea, Befall von Haselnuß, Zytologie und Entwicklung. 167
Phyllocoptes lycopersici, Neubeschreibung, Schädigung an Tomate in Neuseeland. 92
Phyllosticta solitaria, Bekämpfungsversuche mit verschiedenen Kupfermitteln. 168
Phymatotrichum omnivorum, Wurzelfäule an Baumwolle, histologische Untersuchungen. 284
Phytomonas - Arten, Pectase - Tätigkeit. 153
Phytomonas Stewarti, Befall von Mais und anderen Gramineen, Biotypenbildung. 286
— —, Variantenbildung, unterschiedliche Pathogenität an Mais. 87
Phytophthora, Befall durch Trinacrium subtile und Dactylella spermatophaga. 85
— cactorum, Infektionsversuche an Nutzpflanzen. 79
— —, — — Sämlingen von Forstgehölzen. 285
— citrophthora, Infektionsversuche an Nutzpflanzen. 79

Phytophthora infestans, Biotypen, unterschiedlicher Befall von Kartoffeln und Tomaten. 436
— —, Krautfäule der Kartoffel, biologische Spezialisierung. 347
— —, Widerstandsfähigkeit von Kartoffelsorten, Infektionsmethode. 285
— pini, Infektionsversuche an Sämlingen von Forstgehölzen. 285
Pilze, Beteiligung an der Tropfkörperverschlammung bei der Abwasserreinigung 276
—, Beziehungen zu Vitamin B_1. 463
—, Boden-, mikroskopische, Biologie, Verbreitung, Bedeutung. 277
—, —, Wachstumsversuche, Einfluß von Metallen, Antagonismus. 159
—, Einfluß der Temperatur flüssiger Luft. 67
—, Flora der Tschechoslowakei, Beitrag. 441
*—, — des Bodens, Einfluß der Reaktion. 101
—, Gallert-, und Milchlinge, Flora Mitteleuropas. 278
—, holzverfärbende, ausführliche Abhandlung. 84
—, holzzersetzende, Röntgen - Interferenz-Untersuchungen. 160
—, papierzerstörende, neue Arten. 339
—, Pectase-Tätigkeit. 153
*—, Reinkultur durch Ionenzuchtwahl. 55
*—, —, vereinfachte Lindernsche Tröpfchenmethode. 32
—, Schimmel-, Keimzahlverminderung in bakteriologischen Arbeitsräumen. 467
—, —, Menge der lebenden und abgestorbenen Zellen, Bestimmungsmethode. 337
*—, zellulosezersetzende, eisenbedürftige Art. 48
Pimenta officinalis, Befall durch Puccinia psidii in Jamaica, Biotypen. 169
Plankton, Binnensee-, Beziehungen zur Bakterienflora. 160
—, Meeres-, microbiologische Zersetzung. 76
Pockenkrankheit der Kartoffel, Bekämpfungsmöglichkeiten. 86
Podosphaera leucotricha, zusammenfassende Abhandlung. 167
Polyangium, antagonistische Wirkung gegenüber Verticillium dahliae. 283
— cellulosum, Neubeschreibung, Reinkultur, Zellulosezersetzung. 67
Polychrosis botrana, Schädigung an Wein, Biologie, Bekämpfung, Verwechslung mit Clysia ambiguella. 444
Polyporus schweinitzii, Sämlingsbefall an Weymouthskiefern, bedingende Faktoren. 83
Polyvinylalkohol, Verwendung als Agarersatz in Nährböden. 425
Poria vaporaria, Holzzersetzung, Röntgen-Interferenz-Untersuchung. 160
Primula, Befall durch Anguillulina dipsaci, Krankheitsbild, Sortenanfälligkeit. 91
Proactinomyces citreus, Neubeschreibung, Veränderlichkeit. 333
Proactinomyzeten, Veränderlichkeit, Rassen- und Mutantenbildung. 333
*Propionibacterium rubrum, Isoierung aus Käse, Physiologie, Farbbildung. 107
Proteinase, Bakterien-, Einreihung zwischen Papainasen und Tryptasen. 467
*Protozoen, Fauna des Pferdeblinddarms. 409
Prunus-Arten, Befall durch Tranzschelia prunispinosae, morphologisch unterscheidbare Formen des Pilzes. 351
Pseudococcus-Arten, Geschlechtsverhältnis und Fruchtbarkeit. 92
Pseudococcus citri, Bakteriensymbiose, Morphologie und Protoplasmatik der Symbionten, Kulturversuche. 447
Pseudomonas calcoacetica, Assimilationsverhinderung in atmenden Zellen. 66
— rimaefaciens, Neubeschreibung, Erreger von Pappelkrebs. 351
*— tumefaciens, Befall von Asparagus und Phaseolus, biologisch und serologisch unterschiedliche Stämme. 116
*— —, Wurzelkropferreger an Kernobst, Bekämpfungsmöglichkeiten, umfassende Untersuchungen. 210
Pseudoperonospora humuli, Prüfung von Bekämpfungsmitteln, neue Methoden. 435
Pseudopeziza ribis, Reinkultur, Infektionsbedingungen. 82
Psychoda, Eignung zur Entschlammung der Tropfkörper bei der Abwasserreinigung. 276
Psylliodes chrysocephala, Biologie und Bekämpfung. 171
Puccinia psidii, Auftreten an Piment in Jamaica, Biotypen. 169
Pucciniopsis Lonchocarpi, Neubeschreibung, Befall von Lonchocarpus sp. 82
Pullularia pullulans, antagonistische Wirkung auf Pythium-Arten. 439
Pyrenopeziza nigra, Neubeschreibung, Befall von Dipsacus silvestris. 442
Pyrethrum, Bekämpfung von Blattwespenlarven an Hopfen. 444
—, Blattlausbekämpfung an Hopfen. 172
—, Erdflohbekämpfung an Hopfen. 172
—, Senfkäferbekämpfung an Brunnenkresse. 175
Pythium, Befall durch Trinacrium subtile und Dactylella spermatophaga. 85
—, Einfluß der Temperatur flüssiger Luft. 68
Pythium-Arten, Parasitismus auf Gräsern und Luzerne, antagonistische Wirkung anderer Pilze. 439

Quarg, Ursache enteritischer Massenerkrankungen. 429
Quitte, Befall durch Cydia molesta, Verbreitung, Biologie und Bekämpfung des Schädlings. 445
—, Mehltau, zusammenfassende Darstellung. 167

Radiumstrahlen, Einfluß auf Azotobacter. 334
Rahm, Einfluß der Erhitzung auf Mikroorganismengehalt und Geschmack. 72
—, Vakuum-Erhitzung, Einfluß auf Coligehalt der Butter. 73
Rahmeis, Keimzahlbestimmung, vergleichende Nährbodenuntersuchung. 344
Ramularia deflectens, Blattkrankheit an Veilchen, Infektionsversuche. 284
— Malvastri, Neubeschreibung, Befall von Malvastrum sp. 82
Rapsglanzkäfer, Biologie und Bekämpfung. 171
Reblaus, Beziehungen zur Court-noué der Reben. 169
—, Verbreitung in Deutschland 1937. 171
Regenwürmer, Vorkommen in Tropfkörpern bei der Abwasserreinigung. 276
Reis, Fleckenkrankheit auf Blattscheiden durch Rhizoctonia oryzae n. sp. 168
Resaform, Prüfung als Desinfektionsmittel, Methodik. 425
Resistenzzüchtung bei den Kulturpflanzen, Handbuch. 278
— — der Kartoffel gegen Krautfäule in U. S. A. 85
— — — — — — Phytophthora, biologische Spezialisierung des Parasiten. 347
Rhizobium meliloti, Impfversuche an Melilotus-Arten, Beziehungen zwischen Wirt und Bakterienstamm. 346
— —, physikalische Beschaffenheit der Zellen. 159
Rhizoctonia, Einfluß der Temperatur flüssiger Luft. 68
— oryzae, Neubeschreibung, Fleckenerreger auf Blattscheiden von Reis. 168
— solani, Befall der Kartoffel, Bekämpfungsmöglichkeiten. 86
— —, Wurzelfäule an Weizen und Hafer, Infektionsversuche. 438
Rhizopus, Beziehungen zu Vitamin B_1. 463
—, Einfluß der Temperatur flüssiger Luft. 68
— - Arten, Milchsäurebildung. 70
Rhododendron, Hallimaschbefall, unterschiedliche Sortenanfälligkeit, Rassen des Pilzes. 441
Rhodotorula rubra, Beziehungen zu Vitamin B_1. 463
Rind, Galtinfektion, Heilungsversuche mit Entozon-Infusionen. 73
Röntgenstrahlen, Interferenz - Untersuchungen an gesundem und pilzbefallenem Holz. 160
Roggen, Dunkelwerden der Körner bei der Lagerung, Ursachen. 340
—, Heidemoorkrankheit, Bedeutung des Kupfers. 78
—, Milbenbefall im Speicher. 173
*—, Mutterkornbefall, künstliche Erzeugung, Infektionsmaschine. 321
—, Wanzenschäden in der Südslowakei, Bekämpfungsmöglichkeiten. 444
Rose, Befall durch Sphaceloma rosarum, Erhebungen über die Verbreitung in U. S. A. 285
—, Cercospora - Blattflecken, Hauptform: Mycosphaerella rosicola n. sp. 441
Rost an Waldbäumen, Infektionsmethode. 169
—, Piment-, Auftreten in Jamaica, Biotypen. 169
—, Prunus-, Feststellung morphologisch unterscheidbarer Formen. 351
Rotylenchus brachyurus, Neubeschreibung, Befall von Lycoris radiata in U. S. A. 21
Rübe, Kräuselkrankheit, Beziehungen zwischen dem Virus und seinem Überträger. 170
—, Zucker-, Kräuselkrankheit, unterschiedliche Virusstämme. 473
—, —, Milbenbefall des Samens, Bekämpfung. 173
—, —, Herz- und Trockenfäule, Bedeutung des Bors. 471
Rübennematoden, Vorkommen an Weißklee. 90

Saateule, Winter-, Bekämpfung durch Köder. 176
Saatgut, Teeren als Mittel gegen Getreideblumenfliege. 90
Saccharomyces, physikalische Beschaffenheit der Zellen. 159
— cerevisiae, Fernwirkung von Metallen. 462
— —, Rolle bei der Herstellung obergäriger belgischer Biere. 282
—, ellipsoideus, Rolle bei der Herstellung obergäriger belgischer Biere. 282
— lactis, Vorkommen im Huslanka. 156
— validus, Herstellung neuer Rassen durch Kreuzung. 335
*Säurewecker, Einfluß von Kefirextrakt. 376
—, zähflüssiger, Zusammensetzung, Eigenschaften, Eignung für Käsebereitung. 343
Safranin, Reduktion durch Streptokokken und Laktobazillen. 71
Sagrotan, Prüfung als Desinfektionsmittel, Methodik. 425

Salat, Befall durch Sclerotinia sclerotiorum, Verbreitungsmöglichkeit durch Vieh. 79
Sarcina, Keimzahlverminderung in bakteriologischen Arbeitsräumen. 467
*—, Vorkommen im Pferdeblinddarm. 406
Sauerkraut, Beurteilung der Konsumqualität. 468
Sauerteig, natürliche Führung. 340
Schabe, amerikanische, Herzschlagmessung zum Studium von Giftwirkungen. 445
Schafe, Fütterungsversuche mit Sclerotinia sclerotiorum, Einfluß der Darmpassage auf die Sklerotien. 79
Scharlachepidemie, bakteriologische Untersuchungsergebnisse. 468
Schellfisch, anaerobe Bakterienflora der Eingeweide. 341
Schildläuse, Citrus-, Geschlechtsverhältnis und Fruchtbarkeit. 92
Schildwanzen, Schädigung an Weizen, Bekämpfung. 172
Schimmelpilze, Keimzahlverminderung in bakteriologischen Arbeitsräumen. 467
—, Menge der lebenden und abgestorbenen Zellen, Bestimmungsmethode. 337
Schizosaccharomyces Pombe, Rolle bei der Flachsröste. 162
Schlamm, Bekämpfung in künstlich belüfteten Tropfkörpern der Abwasserreinigung. 276
—, Binnensee-, Keimzahlbestimmungen und mikrozonale Daten. 435
—, —, mikrobiologische Untersuchungen. 160
—, mariner, Adsorption von Bakterien. 77
—, —, chemische und biologische Oxydation. 77
Schlick, Meeres-, Flora chitinzersetzender Bakterien. 76
Schmetterlinge, Kontrolle und Bekämpfung durch Köderverfahren. 475
Schmetterlingsmücke, Eignung zur Entschlammung der Tropfkörper bei der Abwasserreinigung. 276
Schorf, Apfel-, Bedeutung des Bors. 471
—, —, Bekämpfungsversuche mit verschiedenen Kupfermitteln. 168
—, —, Beobachtungen an eingetüteten Apfelzweigen. 440
—, —, Sporenflug-Kontrolle durch neue Sporenfalle. 82
—, Kartoffel-, Bekämpfung durch Spritzungen mit Kupferkalkbrühe. 86
—, —, Bekämpfungsmöglichkeiten. 86
—, —, Einfluß der Kalisalzdüngung. 86
Schwammspinner, Kontrolle und Bekämpfung durch Köderverfahren. 476
Schwarzbeinigkeit des Weizens, Beziehungen zwischen Wurzel-, Halmgrund- und Halmbefall. 283
Schwefel, Bekämpfung des Apfelmehltaues. 168
—, benetzbarer, Bekämpfung der Kräuselkrankheit des Pfirsichs. 283
*—, Bodendesinfektion zur Wurzelkropfbekämpfung. 253
Schwefelbakterien, Beteiligung an der Tropfkörperverschlammung bei der Abwasserreinigung. 276
Schwefeldioxyd, Bekämpfung des Erbsenkäfers. 176
Schwefelkalkbrühe, Bekämpfung der Kräuselkrankheit des Pfirsichs. 283
Schwefelwasserstoff, Nachweis in Bakterienkulturen durch Wismut-Indikator. 425
Sclerotinia, Pathogenität an Erbse. 284
— - Arten, Pectase-Tätigkeit. 153
— fructicola, Testobjekt für Prüfung von Kupfer-Fungiziden. 163
— sclerotiorum, Erreger von Knollenherzfäule der Kartoffel. 347
— —, Verbreitung durch Vieh. 79
Sclerotium bataticola, Pectase-Tätigkeit. 153
Scoparia dulcis, Wirtspflanze für Tabak-Kräuselvirus, Infektionsversuche. 170
*Scopulariopsis danica, Neubeschreibung, Isolierung von einem trichophytiekranken Pferd. 390
Sedimente, marine, Adsorption von Bakterien. 77
—, —, chemische und biologische Oxydation. 77
Seide, biologische Tafeln. 279
Seife, Bekämpfung der Kohldrehherzmade. 174
*Selenomonas, Vorkommen im Pferdeblinddarm. 407
*Sellerie, Mehltaubefall, Infektionsversuche. 62
—, Mosaikkrankheit in Italien, Übertragung durch Blattläuse. 88
Senfkäfer, Schädigung an Brunnenkresse, Bekämpfung. 175
Septoria linicola, „Pasmo"-Krankheit des Leins, Auftreten in Deutschland. 81
— oenanthis, Neubeschreibung, Befall von Oenanthis aquatica. 442
Serradella, Stengelbrenner durch Colletotrichum trifolii, Bekämpfungsmöglichkeiten. 166
Sexualhormone, biologische Tafeln. 279
Silber, Fernwirkung auf Mikroorganismen. 462
—, oligodynamische Wirkung. 96
Silberfischchen, Zerstörung von Papierwaren, Biologie, Bekämpfung. 161
Silbernitrat, Tabaksamen-Beizung gegen Wildfeuer. 87
Silofutter, Bedeutung der Enterokokken, Typenfrage. 428
*—, Eiweißerzeugung aus Kohlehydraten und organischen Stickstoffsalzen. 35

Silofutter, Laktobazillenflora, vergleichende physiologische Untersuchungen. 159
—, Möglichkeiten der Erhöhung des Eiweißgehaltes. 282
*—, Stabilität, Gärungsverlauf. 353
Sklerombakterien, Stellung in der Gruppe der Kapselbakterien. 465
Soda, sporozide Wirkung in heißer Lösung. 461, 462
Solanum nigrum, Wirtspflanze für Tabak-Kräuselvirus, Infektionsversuche. 170
Sonnenblume, Milbenbefall der Samen im Speicher. 173
Sorbit, Oxydation durch Acetobacter-Arten. 151
Speichel, hemmende Wirkung auf Diphtheriebakterien. 465
Sphaceloma, Erreger von Blatt- und Stengelflecken an Pfefferminze, Biologie. 81
— rosarum, Erhebungen über die Verbreitung in U. S. A. 285
Sphacelotheca cruenta, Staubbrand der Mohrenhirse, Heterothallismus. 339
Sphaeropsis, Auftreten an Castanea-Zweigkrebs. 80
— Ellisii var. cromogena, Neubeschreibung, Verfärbung von Kiefernholz. 84
Sphaerotilus dichotomus, Beteiligung an der Tropfkörperverschlammung bei der Abwasserreinigung. 276
Spinnmilben, Bekämpfung an Gehölzen. 476
*Spirillum, Vorkommen im Pferdeblinddarm. 406
— serpens, Assimilationsverhinderung in atmenden Zellen. 66
Spiritus, Bekämpfung der Kohldrehherzmade. 174
*Spirochaeta, Vorkommen im Pferdeblinddarm. 407
Spirochäten, Syphilis-, Überleben tiefster Temperaturen. 465
Sporozoen, Auftreten in Nematoden. 446
Spruzit, Bekämpfung von Blattwespenlarven an Hopfen. 444
Spurenelemente, Einfluß auf Leguminosen in Verbindung mit Nitragin. 75
Stachelbeere, Befall durch Pseudopeziza ribis, Infektionsbedingungen, Reinkultur des Parasiten. 82
Stärkepflanzen, tropische, Literaturzusammenstellung. 64
Staphylococcus aureus, Beziehungen zu Vitamin B_1. 463
Steinbrand, Weizen-, Einfluß auf resistente Weizensorten. 437
Sterilisation, Dampf-, Resistenz der Sporenerde, Ursache. 461
—, Heißluft-, Bedingungen für Wirksamkeit. 94
—, —, der Milchkannen. 92
—, sporozide Wirkung heißer Sodalösung. 461, 462
Sterilisation von Fruchtsäften, Matzka-Verfahren. 432
— — Heringskonserven und Roheinbüchsen. 468
Stickstoffbindung durch Azotobacter chroococcum, Asparaginsäurebildung. 333
— — keimende Leguminosensamen. 433
*— — Knöllchenbakterien, Lichteinfluß. 449
*— — —, physiologische Untersuchungen. 1, 68
— — Leguminosen, N-Abgabe an Nichtleguminosen, Mischkulturversuche. 345, 346
Stigmella graminicola, Neubeschreibung, Befall von Tricholaena rosea. 82
Strahlen, Kathoden-, Einfluß auf Aspergillus niger, Mutantenbildung. 339
—, Licht-, Einfluß auf Farbstoffbildung von Penicillium funiculosum. 152
—, —, — — Wachstum von Blau- und Grünalgen. 340
—, mitogenetische, biologische Tafeln. 279
—, Radium-, Einfluß auf Azotobacter. 334
—, Röntgen-, Interferenz-Untersuchungen an gesundem und pilzbefallenem Holz. 160
Streptobacterium plantarum, Flora im Brinsenkäse. 344
Streptococcus-Arten, Einfluß der Kulturbedingungen und des Nährbodens. 149
*— cremoris, Einfluß von Kefirextrakt. 376
— durans, Vorkommen in pasteurisierter und in Rohmilch. 280
*— faecium, Einfluß von Kefirpulver. 378
*— glycerinaceus, Einfluß von Kefirpulver. 378
*— lactis, Einfluß von Kefirextrakt. 376
— —, Flora im Brinsenkäse. 344
— —, Milchsäuregärung, beeinflussende Faktoren. 153, 154
— —, Rolle bei der Entstehung erstickter Milch. 280
— —, Symbiose mit Diplokokken in zähflüssigem Säurewecker. 343
— mastitidis, Vorkommen in pasteurisierter und in Rohmilch. 279
*— thermophilus, Einfluß von Kefirpulver. 378
— —, Methylenblauentfärbung in sterilisierter Milch. 342
— zymogenes, Vorkommen in pasteurisierter und in Rohmilch. 280
*Streptokokken, Flora des Pferdeblinddarmes. 406
—, hämolytische, Vorkommen in pasteurisierter und in Rohmilch. 279
—, Milchsäure-, Einfluß der Kulturbedingungen und des Nährbodens. 149
—, Reduktionsvermögen gegenüber 5 O/R-Indikatoren. 71

Streptokokken, Zitronensäure vergärende, Einfluß des p_H-Wertes auf Bildung von Azetylmethylkarbinol und Diazetyl. 70
Strigeidae, Monographie. 279
Strigomonas oncopelti, Beziehungen zu Vitamin B_1. 463
*Stysanus stemonites, Vorkommen in humosem Boden, Einfluß der Reaktion. 102
*Sublimat, Bodendesinfektion zur Wurzelkropfbekämpfung. 252
Superphosphat, Milbenbekämpfung auf Speichern. 176
Syphilisspirochäten, Überleben tiefster Temperaturen. 465

Tabak, Befall durch Kartoffelviren in der Schweiz. 88
—, eckige Blattfleckenkrankheit, Identifizierung mit Wildfeuer in der Schweiz. 87
—, Kräuselkrankheit in Indien, Übertragungsversuche, Wirtspflanzenbereich. 170
—, lokaler Befall durch Mosaikvirus des chinesischen Kohls. 474
—, Mosaikvirus, chemische Untersuchungen. 152
—, „Rost"-Krankheit, Sammelbegriff für Bakteriosen und Viruskrankheiten in der Schweiz. 87
—, Wildfeuer, Auftreten in der Schweiz, Bekämpfung. 87
Tabulae Biologicae. 279
Talk, Milbenbekämpfung auf Speichern. 176
Tausendfüßler, Schädigung an Kartoffel, Biologie und Bekämpfung. 174
Teestrauch, Krankheiten in Indien, Beschreibung, Infektionsversuche. 165
Temperatur flüssiger Luft, Einfluß auf Pilze und Bakterien. 67
Teppichkäfer, Biologie, Unterscheidung der Arten. 445
Tetranychus Althaeae, Bekämpfung an Gehölzen. 476
Thaumetopoea processionea, Befall von Weinreben, Bekämpfung. 475
*Thermobacterium bulgaricum, Einfluß von Kefirpulver. 378
— —, Vorkommen im Huslanka. 156
*— helveticum, Einfluß von Kefirpulver. 378
*— jugurt, Einfluß von Kefirpulver. 378
— —, Vorkommen im Huslanka. 156
*— lactis, Einfluß von Kefirpulver. 378
Thielaviopsis basicola, Pectase-Tätigkeit. 153
Thiothrix nivea, Beteiligung an der Tropfkörperverschlammung bei der Abwasserreinigung. 276
Thytomous nigrofaciens, Ursache des Dunkelwerdens von Roggenkörnern bei der Lagerung. 341
*Tilachlidium butyri, Neubeschreibung, Vorkommen in Butter. 388
*— humicola, Vorkommen in humosem Boden, Einfluß der Reaktion. 102
Tilletia levis, Einfluß auf resistente Weizensorten. 437
— tritici, Einfluß auf resistente Weizensorten. 437
Tomate, Cladosporium-Befall, Infektionsbedingungen. 441
—, Fruchtflecke durch Botrytis cinerea. 472
—, Phytophthora-Befall, Beziehungen zur Kartoffel-Krautfäule. 435
—, ringspot-ähnliche Viruskrankheit. 286
—, Schädigung durch Phyllocoptes lycopersici n. sp., in Neuseeland. 92
—, Viruskrankheit, neue, in Italien, Beschreibung, Übertragung durch Propfung. 88
—, Wirtspflanze für Tabak-Kräuselvirus, Infektionsversuche. 170
Torula, Flora im Brinsenkäse. 344
—, Rolle bei der Herstellung obergäriger belgischer Biere. 282
Toxoptera aurantii, Epidemiologie, Schädigung an Citrus in Palästina. 93
— graminum, Übertragung der Mosaikkrankheit des Zuckerrohrs. 473
Trametes pini, Holzzersetzung, Röntgen-Interferenz-Untersuchung. 161
Tranzschelia pruni-spinosae, morphologisch unterscheidbare Formen: typica und discolor. 351
Traubenwickler, Schädigung an Wein, Biologie, Bekämpfung. 444
—, starkes Auftreten in Frankreich, Bekämpfungsversuche. 92
Trematodae, Monographie. 279
Tremellineae, Flora Mitteleuropas. 278
Trichoderma, Einfluß der Temperatur flüssiger Luft. 68
— lignorum, Ursache von Nadelholz-Verfärbung. 84
*— —, Vorkommen in humosem Boden, Einfluß der Reaktion. 102
— Koningi, Ursache von Nadelholz-Verfärbung. 84
*— —, Vorkommen in humosem Boden, Einfluß der Reaktion. 102
— —, Wachstumsversuche, Einfluß von Metallen, Antagonismus. 159
Tricholaena rosea, Befall durch Stigmella graminicola n. sp. 82
Trinacrium subtile, parasitisches Vorkommen auf Oomyzeten. 85
Trioform, Prüfung als Desinfektionsmittel, Methodik. 425
Trionymus peregrinus, Geschlechtsverhältnis und Fruchtbarkeit. 92
Tropenkulturen, Literaturzusammenstellung. 64

Tuberkulose, Euter-, Erkennung durch serologische Milchuntersuchung. 430
Tumoren bei Mensch, Tier und Pflanze, biologische Tafeln. 279
Typhula gramium, Fußkrankheit der Wintergerste, Biologie und Bekämpfung. 80
Tyroglyphus farinae, Auftreten an Getreide im Speicher. 173
— —, Befall von Zuckerrübensamen, Bekämpfung. 173
Tyrophogus noxires, Auftreten an Getreide im Speicher. 173

Ulmensterben, Anfälligkeit der Ulmenarten, Infektionsversuche. 438
—, Ausbreitung in Holland. 351
—, Stand der Bekämpfung, Infektionsversuche an Sämlingen in Holland. 351
Urbarmachungskrankheit, Krankheitserscheinungen, Bedeutung des Kupfers. 78
Uromyces caryophyllinus, Testobjekt für Prüfung von Kupfer-Fungiziden. 163
*Uspulun, Bodendesinfektion zur Wurzelkropfbekämpfung. 253
Ustilago zeae, keimungsphysiologische Versuche, Infektionsmodus, Wachstum in der Pflanze. 436

Verticillium albo-atrum, sekundärer Befall gewelkter Kartoffeln. 471
—, — · —, Welkeerreger an Luzerne und Esparsette in Deutschland. 350
— armoraciae, Erreger von Meerrettich-Schwärze, Bekämpfungsmöglichkeiten. 349
— dahliae, Unterschiede zu V. armoraciae. 349
— —, Welkeerreger an Cichorium intybus in Holland. 350
— —, Zerstörung durch antagonistische Mikroorganismen im Boden. 283
— Malthousei, Schädigung in Champignonkulturen, Bekämpfung. 165
*— terrestre, Vorkommen in humosem Boden, Einfluß der Reaktion. 102
Veilchen, Blattkrankheit durch Ramularia deflectens, Infektionsversuche. 284
Venturia inaequalis, Apfelschorf, Bekämpfungsversuche mit verschiedenen Kupfermitteln. 168
— —, Beobachtungen an eingetüteten Apfelzweigen. 440
— —, Sporenflug-Kontrolle durch neue Sporenfalle. 82
Vieh, Verbreitung von Sclerotinia sclerotiorum. 79
Virus, Gurkenmosaik-, Beziehungen zur Mosaikkrankheit der Limabohne. 472
—, Kartoffel-X-, chemische Untersuchungen. 152
Virus, Rübenkräusel-, Beziehungen zu seinem Überträger. 170
—, —, unterschiedliche Stämme. 473
—, Tabakkräusel-, Auftreten in Indien, Übertragungsversuche, Wirtspflanzenbereich. 170
—, Tabakmosaik-, chemische Untersuchungen. 152
—, Zuckerrohr-Mosaik-, Übertragung durch Toxoptera graminum. 473
Viruskrankheiten der Kartoffel, Beziehungen zur Verbreitung von Myzus persicae. 171
— — —, Übergreifen auf Tabak in der Schweiz. 88
—, Herznekrose der Kartoffel, Übertragbarkeit. 352
—, neue, an Tomate in Italien, Beschreibung, Übertragung durch Pfropfung. 88
—, ringspot-ähnliche Erkrankung an Tomate. 286
Vitamin B_1, Beziehungen zu Mikroorganismen. 463
—, Wachstumsförderung bei Bacterium radicicola. 332
Vitamin B_6, Bedeutung als Wuchsstoff für Milchsäurebakterien und Hefen. 470
Vitamin C, Einfluß auf das Wachstum von Anaerobiern bei Sauerstoffgegenwart. 67

Wanzen, Schäden an Getreide in der Südslowakei, Bekämpfungsmöglichkeiten. 444
—, Schild-, Schädigung an Weizen, Bekämpfung. 172
—, —, — — Weizenkörnern. 340
Wasser, Ab-, biologische Reinigung, Eignung künstlich belüfteter Tropfkörper. 276
—, Binnensee-, Bakterienflora, Beziehungen zum Plankton. 160
—, Coli-Nachweis, beschleunigte Keimzahlbestimmung mit Hilfe von Membranfiltern. 76
— des Großen Salzsees, autochthone Bakterienflora. 77
—, Meer-, Bakterienflora, Adsorption durch Meeresschlamm. 77
—, —, Flora chitinzersetzender Bakterien. 76
—, —, Planktonzersetzung, experimenteller Nachweis. 76
—, Trink-, Desinfektion durch Elektrokatadyn-Verfahren, bakteriologische und hygienische Erfahrungen. 426
—, —, Gewinnung aus verunreinigtem Rohwasser. 435
—, Untersuchung an Ort und Stelle. 461
Weichfäule des Champignons, Bekämpfung. 165
Weidnerit-Gel, Versuche zur Verhütung des gelben Galtes. 430

Wein, Bakterienflora und Mannitgärung. 432
—, Befall durch Eichenprozessionsspinner, Bekämpfung. 475
—, Chlorose, Bekämpfung durch Eisensulfat mit Zitronensäure. 471
—, Court-noué, Beziehungen zum Reblausbefall. 169
—, Gärbeschleunigung durch Stickstoffzusätze. 157
—, Peronospora-Bekämpfung in Frankreich, zusammenfassende Darstellung. 80
—, Schädlingsbekämpfung, Erfahrungen eines Praktikers in Frankreich. 287
—, —, praktische. 91
—, Stengelnekrosen durch Phomopsis viticola in Italien. 472
—, Traubenwickler-Befall in Frankreich, Bekämpfungsversuche. 92
—, — (Polychrosis botrana), Biologie und Bekämpfung des Schädlings. 444
—, Wurzelschimmel, Bekämpfungsmöglichkeiten. 81
—, Zitronensäuregehalt des Mostes, Änderung während der Gärung. 75
Weizen, Befall durch Geomyza tripunctata, Biologie des Schädlings. 174
—, Gelbfleckigkeit der Körner, Ursachen. 340
—, Heidemoorkrankheit, Bedeutung des Kupfers. 78
—, Milbenbefall im Speicher. 173
—, Schädigung durch Schildwanzen, Bekämpfung. 172
—, — — Wanzenbefall. 287
—, Schwarzbeinigkeit, Beziehungen zwischen Wurzel-, Halmgrund- und Halmbefall. 283
—, Steinbrandbefall, Einfluß auf resistente Weizensorten. 437
—, Wanzenschäden in der Südslowakei, Bekämpfungsmöglichkeiten. 444
—, Wurzelfäule durch Rhizoctonia solani, Infektionsversuche. 438
Welkekrankheit (Fusariose) der Baumwolle, künstliche Infektionsmethode. 283
— (Verticilliose) der Baumwolle, Zerstörung des Erregers durch antagonistische Mikroorganismen. 283
Wellen, Kurz-, quantitative Einwirkungen auf Bakterien. 94
—, Ultrakurz-, Anwendung bei der Milchpasteurisierung. 430
—, —, Lebensmittelkonservierung, Versuche. 155
Weymouthskiefer, Befall durch Cronartium ribicola, Rolle der Spaltöffnungen. 169
Weymouthskiefer, Sämlingsbefall durch Polyporus schweinitzii, bedingende Faktoren. 83
Wicke, Stickstoffbindung und -abgabe an Nichtleguminosen, Mischkulturversuche. 345
Wildfeuer des Tabaks, Identifizierung mit der eckigen Blattfleckenkrankheit in der Schweiz, Bekämpfung. 87
Willia, Rolle bei der Herstellung obergäriger belgischer Biere. 282
Wurst, Einfluß des Räucherns und Brühens auf die Bakterienflora. 429
—, Konservierungsversuche mit katadynisiertem Wasser. 426
*Wurzelkropf, Bekämpfungsmöglichkeiten an Kernobst, umfassende Untersuchungen. 210
Wurzelschimmel der Reben, Bekämpfungsmöglichkeiten. 81

Xestobium rufovillosum, Biologie. 93

Zellulosezersetzung durch anaerobe Bakterien bei niedriger Sauerstoffspannung. 151
— — Bakterien, vergleichende Untersuchungen. 67
—, mikrobiologische, Einfluß von Lignin. 161
Zephirol, Prüfung als Desinfektionsmittel, Methodik. 425
Zercoscius ometes, Befall von Zuckerrübensamen, Bekämpfung. 173
Zichorie, Verticillium-Welkekrankheit, Auftreten in Holland. 350
Zink, Einfluß auf Wachstum von Bodenpilzen. 159
Zinnia elegans, Wirtspflanze für Tabak-Kräuselvirus, Infektionsversuche. 170
Zinol, neues Grobdesinfektionsmittel, Vorteile. 462
Zuckerpflanzen, tropische, Literaturzusammenstellung. 64
Zuckerrohr, Mosaikkrankheit, Übertragung durch Toxoptera graminum. 473
Zuckerrübe, Herz- und Trockenfäule, Bedeutung des Bors. 471
—, Kräuselkrankheit, unterschiedliche Virusstämme. 473
—, Milbenbefall des Samens, Bekämpfung. 173
Zwiebel, Peronospora-Befall, Sporenverbreitung durch den Wind. 168
—, Säuerung, mikrobiologische Untersuchungen. 155
Zyanogas, Bekämpfung der Kohldrehherzmade. 174
Zymase, Co-, biologische Tafeln. 279

Buchdruckerei F. Mitzlaff, Rudolstadt